ANNO XIX - Nuova Serie 1939 (XVIII) — N. 3





BOLLETTINO

DELLA

R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

DIRETTO DAL PROF. L. PETRI

PUBBLICAZIONE TRIMESTRALE

Edita dalla R. Stazione di Patologia vegetale

ROMA (30) — Via S. Susanna, 13



FIRENZE

TIPOGRAFIA MARIANO RICCI

Via S. Gallo, 32

Personale scientifico della R. Stazione di Patologia Vegetale

CONTENUTO

Lavori eseguiti nella R. Stazione:

MEZZETTI A. — Ricerche sull'eziologia della « piticchia batterica » dei frutti di limone (*Continuazione e fine*) . . . . *Pag.* 251

GOIDÀNICH G. — Il marciume dell' insalata causato da *Sclerotinia minor* Jagg. » 293

GOIDÀNICH G. — Note fitopatologiche: II. - L' anguillulosi dell' ortensia . . . . » 335

Recensioni:

CHIARUGI A., *L'eredità in patologia vegetale.* « IV Congresso di Patologia comparata, Roma, 15-20 maggio 1939 ». Vol. I: Relazioni, pp. 155-220 (G. Goidànich) . . . . » 343

Anno XIX - Nuova Serie N. 3

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Ricerche sull'eziologia della " piticchia batterica „ dei frutti di limone

(*Continuazione, vedi fasc. precedente*).

Ricerche microbiologiche.

Una parte dei risultati di queste ricerche è esposta analiticamente nella tabella di alcune proprietà biochimiche.

Materiali e metodi.

Proprietà morfologiche.

FORMA E MODO DI AGGREGAZIONE DELLE CELLULE.

Gocce pendenti da culture su agar infuso carne peptonato di 48 h. (a 26°), e da culture non aventi neppure 24 h. di età (a 26°) su agar estratto carne peptonato. Strisci, da culture di 40 h. (a 26°) su agar infuso carne peptonato, fissati con alcool formolato, colorati con liquido di Ziehl.

DIMENSIONI DELLE CELLULE.

Strisci come sopra. Le misure hanno un carattere puramente orientativo, perchè sono state eseguite con obbiettivo ad immersione omogenea 1/15'' ed oculare 6C con scala micrometrica fissa (ogni divisione 1,5 μ circa), apparecchiatura insufficiente ad un apprezzamento adeguatamente approssimato della larghezza delle cellule; ho limitato perciò le misure ad appena 10 cellule

per ceppo, scelte a caso. Tuttavia le dimensioni medie ottenute concordano sempre colle differenze di forma osservate.

MOBILITÀ DELLE CELLULE.

Gocce pendenti come sopra.

CILIA.

Materiale da culture di 12-20 h. (a 26°), su agar estratto carne peptonato con molta acqua di condensazione, sospeso in acqua dist. st. e lasciato diffondere per 30'-60'. Vetrini puliti con alcool cloridrico e flambaggio. Distensione sec. Gray (*Manual of methods* della S.A.B., 1933-1938, IV, p. 19). Asciugamento agitando all'aria i vetrini. Colorazione sec. Lancereaux (PUNTONI, 1930, p. 73) per tutti i ceppi; per il ceppo *j* anche sec. DE ROSSI (1927, pag. 51).

CAPSULE.

Gli stessi strisci di cui a: Forma e modo di aggregazione delle cellule. Inoltre: materiale da culture di 3 g. (a 26°), su di un terreno solido di brodo estratto carne glucosato addizionato di siero di sangue, sospeso in acqua dist. st. e lasciato diffondere per 30'-45'; distensione sec. Gray su vetrini puliti con alcool cloridrico e flambati; asciugamento a 35°; colorazione sec. Anthony (*Manual of methods* della S. A. B., 1933-1938, IV, p. 19), oppure fissazione alla fiamma e colorazione con liquido di Ziehl a caldo, differenziando poi con acido acetico all'1% (PUNTONI, 1930, p. 70).

Sono riuscito a mettere in evidenza le capsule in preparati ordinari (colorazione con liquido di Ziehl senza differenziamento); invece i tentativi fatti successivamente nelle condizioni migliori (terreno al siero glucosato e metodi di colorazione appropriati) sono rimasti infruttuosi: attribuisco quest'insuccesso al fatto che a quest'epoca i ceppi erano già in cultura da parecchi mesi, mentre al

momento della prima colorazione i ceppi erano isolati di fresco (ed anche in questa prova apparvero capsulati soltanto i due ceppi da ultimo isolati).

Proprietà culturali.

CAPSULE D'AGAR INFUSO CARNE PEPTONATO.

Culture di 3 g. (a 26°) su agar infuso carne peptonato preparata sec. PUNTONI (1930) (salvo la dose dell'agar, 1%); pH 6,7 (1).

PROVETTE D'AGAR INFUSO CARNE PEPTONATO.

Lo stesso terreno usato per le capsule. Durata delle osservazioni: 46 g. (a 26°).

BRODO INFUSO CARNE PEPTONATO.

Preparato sec. PUNTONI (1930); pH 6,9. Durata delle osservazioni: 44 g. (a 26°).

Ripetuta la cultura in altro brodo preparato nello stesso modo; pH 7,0. Durata delle osservazioni: 11 g. (a 26°).

TERRENI ALL'ESTRATTO CARNE PEPTONATO.

Preparati sec. PUNTONI (1930) (salvo la dose di agar, 1%, per quelli solidi) con estratto di carne A.C.A.S. per batteriologia e peptone batteriologico (Costantino), prodotti dalla S.I.B. di Favria (Torino); pH vario a seconda delle diverse partite di terreno (2).

Su questi terreni i germi considerati si sviluppano un po' meno che sui corrispondenti terreni all'infuso carne; tuttavia la colorazione giallo-verde fluorescente com-

---

(1) Gli esponenti di acidità sono stati determinati col comparatore Hellige; i terreni agarizzati sono stati usati allo stato liquido, a 70°.

(2) Se si seguono le prescrizioni del Puntoni, bisogna correggere la reazione, altrimenti si otterrebbe un terreno notevolmente acido, anzichè al pH 7,4, come è indicato nell'istruzione fornita dalla ditta.

pare in essi ancora abbastanza intensa, a differenza di quanto ha osservato la Bryan (1927) (1).

Brodo-agar estratto carne peptonato.

Preparato sec. Klodnizky (1935); pH 7,7. Durata delle osservazioni: 34 g. (a 26°).

Acqua peptonata.

Preparata sec. Puntoni (1930); pH 7,5. Durata delle osservazioni: 44 g. (a 26°).

Latte tornasolato.

Preparato sec. Puntoni (1930). La scrematura non è riuscita completamente. Durata delle osservazioni: 53 g. (a 26°).

Patate.

Preparate sec. Puntoni (1930). Durata delle osservazioni: 38 g. (a 26°).

Agar infuso buccia limone glucosato.

Preparata sec. Rabinovitz-Sereni (1932), salvo le segg. differenze: l'agar è stata cotta in autoclave a parte ed è stata mescolata col decotto di buccia di limone e col glucosio solo immediatamente prima della sterilizzazione, per evitare di sottoporre ad un eccessivo riscaldamento gl'ingredienti più sensibili; pH 5,5. Durata delle osservazioni: 42 g. (a 26°).

Liquido di Uschinsky.

Preparato sec. Dop e Gautié (1928, p. 284); pH 8,1. Durata delle osservazioni: 32 g. (a 26°).

---

(1) Il Labrousse (1932) e il Lasseur e collaboratori hanno trovato che la fluorescenza è legata alla presenza di fosfato di magnesio nel terreno. Ciò può forse spiegare la discordanza dei fatti surriportati.

LIQUIDO DI FERMI.

Preparato sec. il manuale di LEVINE e SCHOENLEIN (1930), N. 49, var. Tanner; pH 7,3. Durata delle osservazioni: 32 g. (a 26°).

LIQUIDO DI COHN.

Preparato sec. DOP e GAUTIÉ (1928, p. 284) (questa ricetta è uguale a quella riportata nel manuale di LEVINE e SCHOENLEIN (1930), N. 304, var. *a*); pH 6,3. Durata delle osservazioni: 34 g. (a 26°).

Proprietà biochimiche.

GELATINA INFUSO CARNE PEPTONATO.

Preparata sec. PUNTONI (1930); pH 6,8; semina per infissione. Durata delle osservazioni: 43 g. (a 26°). Immediatamente prima di ogni osservazione le culture vennero raffreddate sino a solidificazione delle provette di controllo; in tal modo si poteva osservare se era avvenuta la fluidificazione della gelatina, e in che misura, ma non si poteva apprezzare il *tipo* della fluidificazione. La gelatina usata si dimostrò di cattiva qualità.

INDOLO.

Determinato sec. Legal Weil (PUNTONI, 1930, p. 118) nelle culture di acqua peptonata di cui sopra, a 9 g. e a 44 g. dalla semina. Lo stesso terreno, seminato con *Bac. coli* Escherich ha dato dopo 16 g. una reazione intensamente positiva.

AMMONIACA.

Determinata introducendo una cartina al tornasole rosa bagnata di acqua dist. nelle provette dei brodi infuso carne peptonato di cui sopra, 28 e 44 g. dopo la semina per il primo terreno, 11 g. dopo la semina per il

secondo. Una cartina al tornasole introdotta nelle provette st. per controllo è in tutte e tre le prove rimasta rosa.

Acido solfidrico.

Determinato introducendo cartine all'acetato neutro di piombo st. nelle provette dei brodi infuso carne peptonato di cui sopra. Durata delle osservazioni: rispettivamente 44 e 11 g. per i due terreni. Una cartina introdotta nelle provette st. per controllo è in ambedue le serie di culture rimasta bianca.

Riduzione dei nitrati.

Determinata in provette di brodo estratto carne peptonato addizionato del 0,1% di nitrato potassico. Ricerca dell'ione nitroso: a circa 10 cc. di liquido di cultura aggiungo 1 cc. di soluzione di amido solubile al 0,5%, 1 cc. di soluzione di ioduro potassico al 0,4% e 5 gocce di acido solforico al 50%; in caso positivo colorazione blu-nero intensa (sec. E. F. Smith, 1905, p. 63). Ricerca dell'ione nitrico: se non compare la reazione dell'ione nitroso, aggiungo una presina di polvere di zinco; in caso positivo colorazione blu-nero più o meno intensa; il responso di questo metodo non è sicuro che in caso positivo, perchè in caso negativo l'insuccesso può essere dovuto ad un eccesso d'idrogeno nascente, che, dopo aver ridotto l'ione nitrico ad ione nitroso, impedisce la comparsa della reazione di quest'ultimo, perchè riduce subito l'iodio svolto da essa ad acido iodidrico. Quindi ho considerato come dubbio l'unico risultato negativo ottenuto in questa ricerca. Svolgimento di gas: determinato col dispositivo di Durham (De Rossi, 1927, p. 110). Determinazioni eseguite dopo 2, 5, 20 g. di cultura (a 26°). Le stesse ricerche, ripetute ogni volta, sempre con esito negativo, su acqua dist., su soluzione di nitrito potassico al 0,1% e sul brodo delle provette st. di controllo garantiscono la purezza dei reattivi usati.

Alcune provette st. col dispositivo di Durham, trattate come le provette seminate, hanno servito come controlli per la produzione di gas.

GRAMRESISTENZA.

Materiale da culture di 2-5 g. (a 26°), su agar estratto carne peptonato, sospeso in acqua dist. st. e lasciato diffondere per 30'-60'; distensione sec. Gray, per il metodo Gram-Hucker, coll'ansa, per il metodo Gram-De Rossi; colorazione sec. Hucker (*Manual of methods* della S.A.B., 1933-1938, IV, p. 9) e sec. DE ROSSI (1927, p. 47); controlli con *Bac. coli* Esch. e *Micrococcus pyogenes* (Rosenbach) Lehmann e Neumann. Il metodo di Hucker diede risultati molto più chiari del metodo De Rossi.

FERMENTESCIBILITÀ DI CARBOIDRATI.

Determinata su acqua peptonata tornasolata preparata sec. PUNTONI (1930), addizionata del 2% di glucosio, fruttosio, galattosio, saccarosio (pH 7,2 prima della sterilizzazione), glicerina, mannite, maltosio, lattosio (pH 6,7 prima della sterilizzazione); e su acqua peptonata (pH 6,8 prima della sterilizzazione), addizionata del 2% di amido solubile Kahlbaum (1); sterilizzazione per tindalizzazione. Una serie parallela di provette di acqua peptonata tornasolata semplice e alcune provette st. per ogni terreno zuccherato hanno servito come controlli della reazione del terreno. Ho usato una forte percentuale di carboidrati in considerazione della spiccata attitudine di tutti i ceppi considerati a svolgere ammoniaca, tendenza che è stata confermata dalla serie di culture in acqua peptonata semplice di controllo. Quanto all'inerzia idrogenionica dell'acqua peptonata, l'ho trascurata sapendo per esperienza che essa è molto scarsa. La sterilizzazione ha prodotto imbrunimento, decolorazione, acidificazione percettibili dei terreni al fruttosio e al galattosio, aci-

(1) Quest'amido è rimasto per la maggior parte indisciolto.

dificazione percettibile dei terreni al maltosio e al lattosio. Queste alterazioni, tuttavia, non sembrano aver avuto alcuna influenza sui risultati delle prove di fermentescibilità. La reazione del terreno è stata apprezzata dalla colorazione del terreno stesso, per i terreni zuccherati; al tocco (cartina al tornasole) per il terreno all'amido; in quest'ultimo alla fine della prova è stato ricercato l'amido con una goccia di soluzione iodo-iodurata. Per accertare un'eventuale svolgimento di gas è stata disposta in ogni provetta una campanella di Durham. Durata delle osservazioni: 10 g. (a 26°) per i terreni zuccherati (alcune culture nel terreno al galattosio sono state interrotte al settimo g., ma i risultati sarebbero stati uguali anche se la cultura si fosse protratta fino al decimo g.); 39 g. per il terreno all'amido. I risultati ottenuti hanno dimostrato che 10 g. d'incubazione sono insufficienti per determinare la fermentescibilità di alcuni zuccheri.

Il grado di acidificazione apprezzato è stato in tal modo indicato nella tabella:

—:	coloraz.	azzurra del tornasole o	della	cartina	dopo 10 g.
±:	id.	viola	id.	id.	id.
+:	id.	rosa o viola-rosa	id.	id.	id.
++:	id.	rosa	id.	id.	dopo 72 h.
+++:	id.	»	id.	id.	id. 24 h

PUNTO TERMICO DI MORTE.

Due determinazioni, una ad intervalli di temperatura più larghi, l'altra a intervalli più stretti. Determinato in brodo estratto carne peptonato di pH 8,2 (I determinazione), 6,7 (II determinazione), in provette di 14 mm. di diametro interno, 16 mm. di diametro esterno (10 cc. misurati di terreno per provetta), seminate ciascuna con un'ansata da un mm. di una rigogliosa cultura (di 4-6 g. in brodo estratto carne peptonato di pH 8,2), e subito immerse in acqua calda (bagnomaria a temperatura costante con agitatore) per 10', poi in acqua fredda fino a

completo raffreddamento. Controlli: una serie parallela di provette dello stesso terreno seminate con vari ceppi, ma non sottoposte a riscaldamento, e alcune provette dello stesso terreno st. per ogni serie, sottoposte al medesimo trattamento della serie stessa. Incubazione a 26°; lettura dopo 10 (I determinazione) e 18 g. (II determinazione). Una serie di capsule di agar estratto carne peptonato versata dalle culture di ogni ceppo (della II determinazione) che hanno resistito alla temperatura più alta, ha escluso ogni possibilità d'inquinamento (cfr. E. F. SMITH, 1905, p. 185).

Alcuni termometri immersi nell'acqua del bagnomaria in diversi punti hanno dimostrato che, malgrado l'attiva agitazione, si potevano avere oscillazioni di temperatura dell'ampiezza massima di ± 0°5. A ciò sono attribuibili i risultati leggermente aberranti ottenuti con alcuni ceppi. Nella II serie di determinazioni ho ottenuto valori alquanto più elevati che nella I; il fatto si spiega colla differenza di pH delle due partite di terreno usate, malgrado i miei sforzi di ottenere per ambedue un pH unico, di poco superiore alla neutralità: lo SMITH (1905, p. 77) infatti osserva che coll'aumentare della concentrazione idrogenionica il punto termico di morte s'innalza.

Ceppi studiati.

Quattro ceppi provenienti da rametti di arancio amaro (*b*, *e*, *g*, *a*), 1 ceppo da rametti di arancio dolce (*p*), 8 ceppi da frutti di limone o arancio (*i*, *j*, *n*, *o*, *r*, γ, ε, η), 1 da foglie di pero (*s*), 1 ceppo di *Ps. pyocyanea* (Gess.) Mig., della collezione dell'Ist. d'Igiene della R. Università di Roma, 1 ceppo *fluorescente* da un infuso di baccelli e semi di fave (ϑ).

Tutte le culture indicate sopra furono eseguite almeno in duplo; alcune provette dello stesso terreno furono sottoposte allo stesso trattamento senza seminarle,

per controllo, anche quando ciò non è specificamente indicato. Le osservazioni furono fatte ad intervalli di tempo crescenti a partire dal momento dell'inoculazione.

Raggruppamento dei ceppi e proprietà microbiologiche di ogni gruppo.

I° Gruppo di ceppi (*b, e, g, i, n, r, s, ε*) = Bact. syringae (V. H.) E. F. S.

Cellule isolate o in coppie (corte catenelle e filamenti compaiono solo nelle culture vecchie), di forma cilindrica ad estremità arrotondate (cfr. tav. IX *A* e *B*), 1,0-1,8-3,0 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-4 cilia ad 1-2 poli (Lancereaux) (cfr. tav. IX *I, L, M*); capsule (cfr. tav. IX *A*). In capsule di agar infuso carne peptonato colonia di diametro fino a 5-7 mm.; *macro* tonda, leggermente rilevata, perlacea e lucente a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigrinata* (1), ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna al centro, margine definito intero, talora cristallini aghiformi al centro; colorazione giallo-verde fluorescente del terreno (cfr. tav. VIII *A*). Le culture a striscio in provette di agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonie in capsule; colorazione giallo-verde fluorescente più visibile, per lo spessore maggiore del terreno. In brodo infuso carne peptonato velo biancastro, che frequentemente si lacera e precipita in flocculi, intorbidamento, scarso deposito biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente del liquido. Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile a quella dei terreni all'infuso carne peptonato, ma un po' meno rigogliosa, e colorazione giallo-verde fluorescente un po' meno intensa. In brodo-agar estratto carne peptonato intorbidamento dapprima superficiale,

(1) Questa *zigrinatura* è dovuta al fatto che si intravedono i contorni delle cellule.

poi via via più profondo, dopo parecchi giorni velo biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente debole, che si attenua verso il fondo; in questo terreno i ceppi possono vivere parecchi mesi senza trapianto. In acqua peptonata velo biancastro che alla minima scossa si lacera in fiocculi, che si accumulano sul fondo in un deposito biancastro, intorbidamento; il liquido rimane incoloro. In latte tornasolato: 1) dopo 7 g.: panna, strato trasparente 3 mm. di spessore (1), strato grigio-violaceo diafano 15 mm., strato violaceo opaco il resto, deposito pulverulento; 2) dopo 43 g.: panna bianco-giallo-verdognola, liquido sottostante giallo-verde fluorescente, trasparente, opalescente (cfr. tav. X); 3) dopo 52 g.: panna grigia, liquido giallo-aranciato trasparente opalescente; reazione alcalina alla cartina al tornasole. Interpretazione: inizio di coagulazione (separazione di siero, deposito) subito mascherata dalla digestione della caseina (chiarificazione a strati, scomparsa del deposito); riduzione del tornasole (a strati); alcalinizzazione. Su tasselli di patate vegetazione omogenea, rilevata, liscia, abbondante, lucente, aspetto mucoso; colore perlaceo, poi caffelatte; anche il terreno imbrunisce. Su agar infuso buccia limone glucosato vegetazione discreta, di colore bianco-giallognolo, poi giallo-bruno. In liquido di Uschinsky vegetazione vigorosa: velo biancastro, intorbidamento, fiocculi, deposito biancastro; intensa colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Fermi: membrana biancastra, intorbidamento lento a manifestarsi, fiocculi, talora deposito biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Cohn la vegetazione è scarsissima o manca del tutto. In gelatina infuso carne peptonato inizio di fluidificazione al secondo giorno. Indolo :–. Ammoniaca : +. Acido solfidrico :–. Riduzione dei nitrati: gas–, ione nitroso–, ione nitrico+. Gramresistenza : –. Fermentescibilità di carboidrati : aci-

(1) Misure puramente orientative.

dificazione: glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio +, glicerina? (ceppo ε: ±, gli altri ceppi –), mannite +, maltosio –, lattosio –, amido –; niente gas; in rari casi il tornasole viene ridotto sensibilmente. Punto termico di morte (T.D.P.): fra 44°0 e 49°5 nella prima serie di determinazioni (pH 8,2); fra 50°0 e 52°0 (ceppi *b, e, i, n, s*) o fra 48°3 e 50°0 (ceppi *g, r, ε*) nella II serie di determinazioni (pH 6,7). Leggero odore di urine in putrefazione nei terreni all'infuso e all'estratto carne peptonato, e in latte tornasolato.

Ho avuto occasione di osservare fenomeni di dissociazione. Già nelle prime semine avevo osservato che alcune colonie del ceppo *e* presentavano delle leggere ombreggiature sinuose sulla loro superficie, quasi abbozzi di grinze. Dopo alcuni mesi di cultura in brodo-agar estratto carne peptonato senza trapianti, alla prima serie di capsule di agar infuso carne peptonato di nuovo versata, comparvero, nei ceppi *b* ed *s*, parecchie colonie con grinze sinuose che ricordavano delle circonvoluzioni cerebrali (cfr. tav. VIII *B*) (1); e nel ceppo *g* delle colonie ad ombreggiature sinuose simili a quelle già osservate nel ceppo *e*. In altre serie di capsule seminate tanto dalle colonie liscie come dalle colonie grinzose di questi ceppi, i caratteri delle colonie madri non si sono riprodotti con costanza. Le discendenze di queste colonie liscie e grinzose hanno dimostrato in genere scarsa mobilità in goccia pendente e scarsa virulenza se inoculate in frutti di limone (X serie d'inoculazioni in frutti di limone), ma non sono riuscito a mettere in evidenza una stretta correlazione fra aspetto delle colonie, mobilità e patogenicità.

---

(1) L'ingrandimento è troppo piccolo perchè si possano vedere queste particolarità. La mia fotografia si può integrare con quella riportata in un lavoro di Mallmann e Gallo (1933, tav. I, *A* e *B*) sulla dissociazione delle *brucelle*: queste figg. riproducono colonie di una struttura estremamente simile a quella da me osservata.

II° Gruppo di ceppi (*j*).

Cellule isolate o in coppie (corti filamenti in culture vecchie), di forma cilindrica a estremità arrotondate (cfr. tav. IX *C*), 2,0-2,3-2,5 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-2 cilia ad 1-2 poli (?) (De Rossi e Lancereaux) (1). In capsule di agar infuso carne peptonato colonia di diametro fino a 5-7 mm.; *macro* tonda, leggermente rilevata, perlacea e lucente a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigrinata*, ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna al centro, margine definito intero. Le culture a striscio in provette di agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonie in capsule; colorazione bruna molto intensa del terreno, che compare solo dopo alcuni g. di cultura, e quindi è difficilmente rilevabile nelle capsule. In brodo infuso carne peptonato velo biancastro, intorbidamento, fiocculi, deposito brunastro; colorazione giallo-bruna del liquido. Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile a quella su descritta, un po' meno rigogliosa, colorazione bruna un po' meno intensa. In brodo-agar estratto carne peptonato intorbidamento dapprima superficiale, poi via via più profondo, pellicola; colorazione giallo-bruna che si attenua verso il fondo; in questo terreno il ceppo si conserva a lungo senza trapianto. In acqua peptonata intorbidamento; dopo parecchi g. colorazione bruna del liquido. In latte tornasolato lenta coagulazione e acidificazione, scarsa separazione di siero; riduzione del tornasole (cfr. tav. X). Su tasselli di patate vegetazione omogenea rilevata liscia abbondante lucente, di aspetto mucoso; colore caffelatte, poi nocciola; anche il terreno imbrunisce. Su agar infuso buc-

(1) Le cilia di questo ceppo sono molto difficilmente colorabili, tanto che in molti vetrini colorati con entrambi i metodi da me impiegati non sono riuscito a rintracciare che pochissime cellule con cilia visibili, non certo ben colorate; quindi le conclusioni trattene sul numero e sulla disposizione delle cilia sono incerte.

cia limone glucosato vegetazione scarsissima. In liquido di Uschinsky velo biancastro e intorbidamento. In liquido di Fermi membrana biancastra e intorbidamento. In liquido di Cohn la vegetazione è scarsissima o manca del tutto. In gelatina infuso carne peptonato nessuna fluidificazione dopo 10 g., fluidificazione dopo 43 g. Indolo: –, dopo 9 g. di cultura; ?, dopo 44 g. (causa la colorazione bruna del substrato). Ammoniaca: +. Acido solfidrico: –. Riduzione dei nitrati: gas –, ione nitroso –, ione nitrico +. Gramresistenza: –. Fermentescibilità di carboidrati: acidificazione: glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio –, glicerina –, mannite +, maltosio –, lattosio –, amido –; niente gas. Punto termico di morte (T.D.P.): fra 44°0 e 49°5 nella I serie di determinazioni (pH 8,2); fra 48°3 e 50°0 nella II serie di determinazioni (pH 6,7).

III° Gruppo di ceppi (*o*, α, γ, η).

Cellule isolate o in coppie o in catenelle, di forma per lo più ellittica, cioè più corta di quella dei due gruppi di ceppi precedenti (cfr. tav. IX *D* e *F*), 0,5-0,9-2,0 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-9 cilia peritriche (Lancereaux) (cfr. tav. IX *N*, *P*, *A*). In capsule d'agar infuso carne peptonato colonia di diametro fino a 10-12 mm.; *macro* tonda, leggermente rilevata, lucente, perlacea (ceppo *o*), o gialla (ceppi α, γ, η) a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigrinata* e ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna e zigrinata al centro (ceppo *o*) o gialla e grumosa al centro (ceppi α, γ, η), margine definito intero.

Le culture a striscio in provette d'agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonia in capsula, salvo che la granulosità è percettibile anche ad occhio nudo. In brodo infuso carne peptonato pellicola biancastra (*o*) o giallognola (γ) o gialla (α e η), intorbidamento e fiocculi, deposito bruno-chiaro (*o*) o giallognolo (γ) o

giallo (α e η). Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile, ma un po' meno rigogliosa che nei terreni all'infuso carne. In brodo-agar estratto carne peptonato intorbidamento dapprima superficiale, poi via via più profondo, dopo parecchi g. pellicola biancastra (o e γ) o gialla (α ed η); culture lungamente serbevoli. In acqua peptonata intorbidamento e fiocculi, deposito. In latte tornasolato, ceppi o e γ: 1) dopo 7 g.: come il controllo; 2) dopo 43 g.: panna bianco-giallognola, strato di liquido biancastro diafano che verso il fondo sfuma gradualmente in uno strato di bianco opaco, coagulo molle sul fondo; 3) dopo 52 g.: panna biancastra, liquido opaco leggermente rosato; reazione acida alla cartina al tornasole. Interpretazione: lenta e parziale coagulazione, poi inizio di digestione del coagulo (?); riduzione del tornasole; acidificazione. In latte tornasolato, ceppi α e η: 1) dopo 7 g.: come il controllo; 2) dopo 43 g.: panna giallo-aranciata, strato di liquido bianco-giallognolo diafano, strato di coagulo consistente bianco-roseo (cfr. tav. IV); 3) dopo 52 g.: panna giallognola, strato di liquido trasparente paglierino, strato di coagulo rosa-pallido; reazione acida alla cartina al tornasole. Interpretazione: lenta coagulazione con separazione di siero; acidificazione; riduzione del tornasole. Su tasselli di patate, ceppi o e γ: vegetazione omogenea, rilevata, liscia, abbondante, lucente, aspetto mucoso; colore perlaceo, poi caffelatte; anche il terreno imbrunisce. Su tasselli di patate, ceppi α ed η: vegetazione omogenea, piatta, liscia, abbondante, lucente; colore giallo, poi giallo-scuro; anche il terreno imbrunisce. Su agar infuso buccia limone glucosato vegetazione omogenea, piatta, liscia (o) o caratteristicamente granulosa (α, γ, η), margine definito; colore giallognolo, poi giallo-bruno (o), oppure persistentemente bianco-giallognolo (α, γ, η). In liquido di Uschinsky pellicola biancastra (o) o giallognola (α, γ, η), intorbidamento, talora fiocculi, deposito biancastro (o) o bianco-giallognolo (α, γ, η). In liquido di Fermi velo o pellicola biancastra (o) o gial-

lognola (α, γ, η), forte intorbidamento, talora flocculi, deposito biancastro (o) o bianco-giallognolo (α, γ, η). In liquido di Cohn vegetazione più o meno stentata a seconda dei ceppi. In gelatina infuso carne peptonato, ceppo o: nessuna fluidificazione dopo 10 g., fluidificazione dopo 43 g.; ceppi α e γ: nessuna fluidificazione dopo 4 g., fluidificazione dopo 7 g.; ceppo η: inizio di fluidificazione al decimo g.. Indolo :–. Ammoniaca : +. Acido solfidrico : + (la reazione è comparsa fra il 2° e l'8° g. a seconda dei ceppi). Riduzione dei nitrati: gas –, ione nitroso + dopo 48 h.. Gramresistenza :–. Fermentescibilità di carboidrati: acidificazione: glucosio +, fruttosio + galattosio +, saccarosio – (o, γ) o + (α, η), glicerina +, mannite +, maltosio +, lattosio –, amido –; niente gas; in qualche caso il tornasole viene ridotto sensibilmente. Punto termico di morte (T.D.P.): fra 49°5 e 55°0 nella I serie di determinazioni (pH 8,2); 50°0-52°0 (o, γ, η) o 52°0-54°3 (α) nella II serie di determinazioni (pH 6,7). Caratteristico odore gradevole nei terreni all'infuso e all'estratto carne peptonato e in latte tornasolato, in genere più intenso per i ceppi α e η, più tenue per i ceppi o e γ.

Il tipo di colonia suddescritta per questo gruppo di ceppi non si mantiene sempre costante: in capsule seminate col ceppo α, per esempio, dopo parecchi mesi di cultura sono comparse, accanto a colonie della forma suddescritta, colonie a superficie fortemente granulosa, giallo-bruna, con zonature concentriche, e tra zona e zona dei rilievi, che però al microscopio appaiono invece come alveoli. Detti rilievi possono essere soltanto abbozzati.

Dai caratteri sopra descritti appare che il III° gruppo di ceppi non è così omogeneo come il I°; il ceppo o si distacca alquanto dai ceppi α ed η, ma il ceppo γ costituisce un termine di transizione, rendendo necessaria l'assegnazione di tutti i ceppi allo stesso gruppo.

IV° Gruppo di ceppi (*p*).

Cellule isolate o in coppie o in catenelle, di forma ellittica-cilindrica ad estremità arrotondate, cioè intermedia fra quella dei ceppi del I° e del III° gruppo (cfr. tav. IX *F*), 1,0-1,3-1,5 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-6 cilia ad 1-2 poli (Lancereaux) (cfr. tav. IX *R*). In capsule d'agar infuso carne peptonato colonia *macro* fimbriata, se l'agar è sufficientemente spesso, isodiametrica, se l'agar è sottile (cfr. Bryan, 1928), leggermente rilevata, perlacea e lucente a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigrinata*, al centro talora granulosità più grossolana, ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna al centro, margine definito o indefinito (sfrangiato); colorazione giallo-verde fluorescente del terreno. Le culture a striscio in provette d'agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonie in capsula; colorazione giallo-verde fluorescente più visibile per lo spessore maggiore del terreno. In brodo infuso carne peptonato pellicola o membrana biancastra, intorbidamento, fiocculi, deposito biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente del liquido. Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile a quella dei terreni all'infuso carne peptonato, ma un po' meno rigogliosa; colorazione giallo-verde fluorescente un po' meno intensa. In brodo-agar estratto carne peptonato vegetazione dapprima superficiale, poi via via più profonda; dopo parecchi g. pellicola biancastra; colorazione giallo-verde fluorescente che si attenua verso il fondo; lunga vitalità. In acqua peptonata pellicola biancastra, intorbidamento, fiocculi, deposito biancastro; il liquido rimane incoloro. In latte tornasolato coagulazione con separazione di siero, riduzione del tornasole, acidificazione (cfr. tav. X). Su tasselli di patate vegetazione omogenea, rilevata, liscia, abbondante, lucente, di aspetto mucoso; colore caffelatte, poi nocciola; anche il terreno imbrunisce. Su agar infuso buccia li-

mone glucosato vegetazione scarsissima. In liquido di Uschinsky vegetazione vigorosa: pellicola biancastra, intorbidamento, deposito biancastro; intensa colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Fermi pellicola o membrana biancastra, intorbidamento; colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Cohn vegetazione discreta: pellicola biancastra, intorbidamento e fiocculi, deposito biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente. In gelatina infuso carne inizio di fluidificazione al secondo g.. Indolo:–. Ammoniaca: +. Acido solfidrico:–. Riduzione dei nitrati: gas –, ione nitroso –, ione nitrico – (?) dopo 20 g.. Gramresistenza:–. Fermentescibilità di carboidrati: acidificazione: glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio +, glicerina –, mannite –, maltosio –, lattosio –, amido –; niente gas. Punto termico di morte (T.D.P.): fra 44°0 e 49°5 nella I serie di determinazioni (pH 8,2); 52°0-54°3 nella II serie di determinazioni (pH 6,7). Leggero odore di urine in putrefazione nei terreni all'infuso e all'estratto carne peptonato e in latte tornasolato.

Il tipo di colonia descritto per questo ceppo non si mantiene sempre costante: per es. in capsule seminate dopo parecchi mesi di cultura sono comparse colonie con striature radiali (cfr. tav. VIII *V*). Nelle prove di colorazione all'uopo istituite non sono state messe in evidenza capsule. Tuttavia, poichè il ceppo produce su quasi tutti i terreni solidi e anche in terreni liquidi vegetazioni *filanti*, è probabile che abbia cellule capsulate.

V) Gruppo di ceppi = Ps. pyocyanea (Gess.) Mig.

Cellule isolate o in coppie o in catenelle o in filamenti, di forma cilidrica ad estremità arrotondate (cfr. tav. IX *G*), 1,0-2,1-3,0 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-2 cilia ad 1-2 poli (Lancereaux) (cfr. tav. IX *O*). In capsule d'agar infuso carne peptonato colonia di diametro fino a 7 mm.; *macro* tonda, piatta, perlacea e lucente a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigri-*

nata, al centro talora granulosità più grossolana, ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna al centro; margine indefinito; colorazione giallo-verde fluorescente. Le culture a striscio in provette di agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonie nelle capsule; colorazione giallo-verde fluorescente più visibile per lo spessore maggiore del terreno. In brodo infuso carne peptonato pellicola biancastra, intorbidamento, deposito biancastro: colorazione giallo-verde fluorescente. Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile a quella dei terreni all'infuso carne peptonato, un po' meno vigorosa; colorazione giallo-verde fluorescente un po' meno intensa. In brodo-agar estratto carne peptonato la vegetazione si limita, anche dopo 1-2 mesi, ad uno strato molto sottile e denso alla superficie del terreno, che forma una specie di spessa membrana, mentre il liquido sottostante rimane limpido; a poco a poco si produce un'intensissima colorazione fluorescente verde, poi verde-azzurra; lunga vitalità. In acqua peptonata velo biancastro, intorbidamento, deposito biancastro; dopo lungo tempo colorazione giallo-bruna del liquido. In latte tornasolato: 1) dopo 7 g.: panna giallognola, strato trasparente di 5 mm. di spessore, strato violaceo sbiadito, deposito pulverulento; 2) dopo 43 g.: strato di coagulo consistente galleggiante 10 mm., giallo-aranciato, liquido trasparente opalescente giallo-verde fluorescente 20 mm., coagulo molle giallo-aranciato sul fondo (cfr. tav. X); 3) dopo 52 g.: (?) (le provette sono state agitate); reazione neutra alla cartina al tornasole. Interpretazione: coagulazione con separazione di siero; riduzione del tornasole. Su tasselli di patate vegetazione omogenea, rilevata, liscia, abbondante, lucente, di aspetto mucoso; colore dapprima caffelatte, poi nocciola; anche il terreno imbrunisce. Su agar infuso buccia limone glucosato vegetazione omogenea, piatta, liscia, margine definito; colore giallognolo, poi giallo-bruno. In liquido di Uschinsky vegetazione un po' stentata: velo biancastro, intorbidamento lento a manifestarsi; colorazione

giallo-verde fluorescente. In liquido di Fermi vegetazione pure un po' stentata: pellicola biancastra, intorbidamento lento a manifestarsi; colorazione giallo-verde fluorescente del liquido. In liquido di Cohn la vegetazione è scarsissima o manca del tutto. In gelatina infuso carne peptonato inizio di fluidificazione al secondo g.. Indolo: –. Ammoniaca: +. Acido solfidrico: –. Riduzione dei nitrati: gas + dopo 48 h., ione nitroso –, ione nitrico – (?) già dopo 48 h.. Gramresistenza :–. Fermentescibilità di carboidrati: acidificazione: glucosio +, fruttosio –, galattosio +, saccarosio –, glicerina –, mannite –, maltosio –, lattosio –, amido –; niente gas; il tornasole viene ridotto molto frequentemente, e il liquido spesso assume una sfumatura di colore verde. Punto termico di morte (T.D.P.): fra 49°5 e 55°0 nella I serie di determinazioni (pH 8,2); superiore a 54°3 nella II serie di determinazioni (pH 6,7). Caratteristico odore aromatico nei terreni all'infuso e all'estratto carne peptonato e in latte tornasolato.

Il tipo di colonie descritto per questo ceppo non si mantiene sempre costante; in capsule seminate dopo parecchi mesi di cultura sono comparse colonie a periferia rilevata e centro depresso e cosparso di numerosi cristallini aghiformi (cfr. tav. VIII *D*).

VI° Gruppo di ceppi (ϑ)

Cellule isolate o in coppie, di forma ellittica-cilindrica ad estremità arrotondate, cioè intermedia fra quella dei ceppi del I e del III gruppo (cfr. tav. IX *H*), 1,0-1,2-1,5 × 0,5 μ, vivacemente mobili per mezzo di 1-6 cilia ad 1-2 poli (Lancereaux) (cfr. tav. IX *S*). In capsule d'agar infuso carne peptonato colonia di diametro fino a 7-8 e talvolta anche 15 mm.; *macro* tonda, leggermente rilevata, perlacea e lucente a luce riflessa; *micro* liscia, minutamente *zigrinata*, al centro talora granulosità più grossolana, ialina alla periferia, debolmente giallo-bruna al centro; margine definito o indefinito (sfrangiato);

colorazione giallo-verde fluorescente del terreno (cfr. tavola VIII *E*). Le culture a striscio in provette d'agar infuso carne peptonato hanno lo stesso aspetto delle colonie in capsula; colorazione giallo-verde fluorescente più visibile per lo spessore maggiore del terreno. In brodo infuso carne peptonato velo biancastro, intorbidamento e flocculi, deposito biancastro; colorazione giallo-verde fluorescente. Nei terreni all'estratto carne peptonato vegetazione simile a quella dei terreni all'infuso carne peptonato, ma un po' meno rigogliosa; colorazione giallo-verde fluorescente un po' meno intensa. In brodo-agar estratto carne peptonato intorbidamento dapprima superficiale, poi via via più profondo, dopo parecchi g. pellicola biancastra; colorazione giallo-verde fluorescente debole, che si attenua verso il fondo; lunga vitalità. In acqua peptonata velo biancastro che facilmente si lacera in flocculi, intorbidamento, deposito biancastro; dopo lungo tempo colorazione giallo-bruna del liquido. In latte tornasolato: 1) dopo 7 g.: panna, strato di liquido trasparente incoloro di 5 mm. di spessore, strato grigio-violaceo 10 mm., strato violaceo 30 mm., coagulo molle sul fondo; 2) dopo 43 g.: strato di coagulo consistente galleggiante 10 mm., giallo-verde, liquido trasparente opalescente giallo-verde fluorescente, coagulo molle giallo-aranciato sul fondo; 3) dopo 52 g.: ? (le provette sono state agitate); reazione alcalina alla cartina al tornasole. Interpretazione: coagulazione con separazione di siero; riduzione del tornasole; alcalinizzazione. Su tasselli di patate vegetazione abbondante, omogenea, rilevata, liscia, lucente, di aspetto mucoso; colore perlaceo; il terreno imbrunisce. Su agar infuso buccia limone glucosato vegetazione scarsissima. In liquido di Uschinsky pellicola biancastra, intorbidamento, deposito biancastro; intensa colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Fermi pellicola o membrana biancastra, intorbidamento; colorazione giallo-verde fluorescente. In liquido di Cohn la vegetazione è scarsissima o manca del tutto. In gelatina infuso carne peptonato inizio di fluidificazio-

ne dopo 24 h.. Indolo :–. Ammoniaca +. Acido solfidrico : –. Riduzione dei nitrati : gas –, ione nitroso –, ione nitrico +. Gramresistenza : –. Fermentescibilità di carboidrati : acidificazione : glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio –, glicerina –, mannite –, maltosio –, lattosio –, amido – ; niente gas. Punto termico di morte (T.D.P.) : fra 49°5 e 55°0 nella I serie di determinazioni (pH 8,2) ; fra 52°0 e 54°3 nella II serie di determinazioni (pH 6,7). Odore di urine in putrefazione nei terreni all'infuso e all'estratto carne peptonato e in latte tornasolato.

Nelle prove di colorazione all'uopo istituite non sono state messe in evidenza delle capsule. Tuttavia è probabile che il ceppo abbia cellule capsulate, poichè produce vegetazione filante su quasi tutti i terreni solidi e anche in terreni liquidi.

Considerazioni critiche sulle proprietà microbiologiche dei ceppi studiati.

I° Gruppo di ceppi (*b*, *e*, *g*, *i*, *n*, *r*, *s*, *ε*) = Bact. syringae (V. H.) E. F. S.

I caratteri microbiologici dei ceppi di questo gruppo sono molto omogenei ; essi fanno assegnare questo gruppo alla specie *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S., in perfetto accordo coi risultati delle ricerche fitopatologiche prima esposte. Esistono tuttavia delle leggere differenze fra la mia diagnosi e quelle degli altri AA. che hanno studiato questa specie : un raffronto fra i risultati non concordanti sarà utile per scoprire la causa delle discordanze e per appurare quali risultati si debbano ritenere come giusti.

C. O. Smith (1913) attribuisce al *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. un solo cilio ; il Lee (1917) 1-4 ad 1-2 poli ; Fawcett, Horne e Camp (1923) anche più di 4 ad 1-2 poli ; il Clara (1934) 1-2 ad 1-2 poli ; io ne ho trovate 1-4 ad 1-2 poli. Data la facilità con cui le cilia si staccano, si può concludere con Fawcett, Horne e Camp

che il *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. può avere talvolta anche più di 4 cilia ad 1-2 poli.

C. O. SMITH (1913) e la BRYAN (1928) hanno trovato il batterio capsulato; il LEE (1917), il CLARA (1934) e H. S. FAWCETT (1936) negano la presenza di una capsula; io ho trovato gli stessi ceppi capsulati se isolati di fresco, non capsulati dopo alcuni mesi di cultura; la specie è quindi da ritenersi provvista di capsula.

La BRYAN (1928) e ROSEN e BLEECKER (1933) hanno osservato come me fenomeni di dissociazione in questa specie. Il tipo aberrante di colonia da me descritto ricorda molto quello raffigurato da ROSEN e BEECKER (cfr. la fotografia riportata nel loro lavoro a p. 112, tav. I A, colla mia tav. VIII, e con quella di MALLMANN e GALLO, 1933, tav. I A e B, che riproducono una struttura estremamente simile a quella da me osservata); esso può essere forse ravvicinato anche a quel tipo di colonia « a contorno irregolare (non però fimbriata), leggermente raggrinzita e grossolanamente *zigrinata* » descritto dalla BRYAN (1928, p. 232), ma è certamente diverso dal tipo normale di colonia dei ceppi isolati da questa A. negli S. U..

Quanto alle differenze fra le osservazioni della BRYAN (1928) e le mie sulla produzione di colorazione giallo-verde fluorescente nei terreni all'estratto carne peptonato, ho già detto a proposito dei materiali e metodi seguiti.

Non so come spiegarmi perchè il V. HALL (1902) non sia riuscito a far crescere il batterio su agar acqua peptonata. Anche C. O. SMITH (1913) infatti è riuscito a far vegetare il *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. in acqua peptonata.

In latte tornasolato il V. HALL (1902, p. 192) ha osservato « precipitazione della caseina, accompagnata però da una soltanto lieve coagulazione » (?); il LEE (1917) lenta coagulazione e successivamente lenta peptonizzazione; MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA (1936, p. 430-433) analogamente coagulazione e digestione del latte;

C. O. SMITH (1913), FAWCETT, HORNE e CAMP (1923) nessuna coagulazione e rapida peptonizzazione; la BRYAN (1928) ha rilevato la separazione di uno straterello di siero nella parte superiore della cultura senza nessun altro segno di coagulazione, indi peptonizzazione a strati; il CLARA (1934) non ha osservato coagulazione del latte nè per il *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. nè per le numerose altre specie e varietà affini da lui studiate; lo SMITH (1930) dal confronto di parecchi di questi risultati colle sue osservazioni del 1913 ed altre più recenti, ha concluso che accanto al fenomeno di coagulazione nelle culture in latte si ha il fenomeno di digestione o peptonizzazione del coagulo, che maschera più o meno completamente il primo. I miei rilievi confermano dette conclusioni dello Smith.

Non comprendo la ragione per cui FAWCETT, HORNE e CAMP (1923, p. 5) non hanno ottenuto vegetazione in liquido di Uschinsky, e la ragione per cui MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA (1936, pp. 430-433) non ha osservato produzione di pigmento *fluorescente* in liquido di Fermi. Tutti gli altri AA. hanno ottenuto risultati conformi ai miei.

Il batterio in questione è risultato allo SMITH (1913) e al LEE (1917) più o meno intensamente indoligeno; il V. HALL (1902) e la BRYAN (1928) invece affermano, d'accordo coi miei risultati, che il batterio non produce indolo; la spiegazione della contraddizione è data dallo SMITH (1930): il metodo usato da lui stesso nel 1913 e dal Lee (al nitrato sodico e acido solforico) non è attendibile; egli nel 1930, col metodo alla vanillina, non è riuscito a mettere in evidenza indolo nelle culture del batterio.

Quanto alla riduzione dei nitrati, già il V. HALL (1902, pp. 156-157 e 194-195) aveva osservato che il batterio riduce i nitrati solo in assenza di altri composti di azoto assimilabile, che esso preferisce ai nitrati per le sue funzioni nutritive (quindi solo in terreni minerali); ma gli AA. che si sono occupati in seguito di questa

specie hanno generalmente trascurato la relazione di V. Hall, e così si giustifica il fatto che i loro risultati, ottenuti in terreni diversi, erano apparsi finora inspiegabilmente contraddittori. Infatti E. F. SMITH (1905) ha ottenuto risultato positivo con un ceppo isolato da H. Hall, risultato negativo con un ceppo isolato dal Beyerinck (ambedue i ceppi erano però avirulenti); la BRYAN (1928) ha ottenuto risultato negativo collo stesso metodo da me usato, risultato positivo con un metodo più sensibile; il CLARA (1934) risultato negativo; MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA (1936) risultato debolmente positivo.

Nelle prove di fermentescibilità di carboidrati V. HALL (1902, p. 196) ha ottenuto: glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio +, glicerina +, mannite +, maltosio −, lattosio −, amido − (metodo auxanografico); C. O. SMITH (1913) si è limitato ad osservare lo svolgimento di gas, e quindi ha ottenuto: glucosio −, galattosio −, saccarosio −, glicerina −, mannite −, maltosio −, lattosio −. Il LEE (1917) ha ottenuto: glucosio −, saccarosio −, glicerina −, mannite −, maltosio −, lattosio −, (brodo peptonato zuccherato più tornasole). La BRYAN (1928, p. 233): glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio +, glicerina +, mannite +, maltosio−, lattosio−, amido + (debolissimo) (agar estratto carne peptonato zuccherato più bromcresolporpora, e agar minerale più bromcresolporpora). C. O. SMITH (1930): glucosio +, fruttosio +, galattosio +, saccarosio +, glicerina +, maltosio −, lattosio − (acqua peptonata più bromcresolporpora o fenolrosso, terreno di Czapek più bromcresolporpora o fenolrosso). F. M. CLARA (1934, p. 29) tra gli altri carboidrati: fruttosio +, saccarosio +, glicerina +, mannite +, maltosio −, lattosio −, amido − (terreno minerale da cui non si può svolgere ammoniaca). MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA (1936, pp. 430-433) tra gli altri carboidrati: fruttosio +, mannite +. Tutti questi risultati salvo quelli del LEE, concordano fra di loro e coi miei per tutti i carboidrati salvo glicerina ed amido (fruttosio e mannite

hanno nelle mie prove dato luogo a lenta, ma netta acidificazione). Questa discordanza si spiega facilmente coi seguenti fatti: il *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. ha spiccata attitudine a svolgere ammoniaca da tutti i terreni contenenti azoto organico (C. O. Smith, 1930, p. 243, ha osservato alcalinizzazione dell'acqua peptonata dopo 6 g.; la Bryan, 1928, p. 234, energica produzione di ammoniaca dagli ordinari terreni, ecc.; cfr. anche le mie osservazioni sulla serie di culture in acqua peptonata tornasolata semplice di controllo nelle prove di fermentescibilità): fra i 4 batteri studiati dal V. Hall (1902, pp. 165-166 e 197) esso è quello che produce la più bassa acidità titolabile nei terreni zuccherati, e inoltre esso fermenta la glicerina e l'amido molto lentamente; il tornasole, da me e da altri usato, ha scarsa sensibilità in confronto con altri indicatori (cfr. C. O. Smith, 1930, p. 243); è presumibile inoltre che la prova di fermentescibilità su terreni solidi sia più sensibile di quella in terreni liquidi, perchè in questa l'azione dei batteri si diffonde in tutta la massa del terreno, in quella rimane accentrata esclusivamente intorno alle colonie, dove probabilmente acquista una particolare intensità.

III° Gruppo di ceppi (*o*, *α*, *γ*, *η*).

A parte la patogenicità, il *Bac. citrimaculans* D. differisce da questi ceppi per i seguenti caratteri: 1) Forma: cellule cilindriche snelle. 2) Aspetto *micro* delle colonie: nel margine delle colonie giovani su agar estratto carne peptonato si vedono muoversi le cellule. 3) Capsule: rilevabili in una colorazione col liquido di Ziehl diluito. 4) In liquido di Cohn non cresce: 5) Indolo: +. 6) Riduzione dei nitrati gas +. 7) Gramresistenza: +. 8) Fermentescibilità di carboidrati: glicerina −. 9) Punto termico di morte (T.D.P.): 62° (cfr. Doidge, 1917, e Rabinovitz-Sereni, 1932). Questo gruppo di ceppi rassomiglia invece singolarmente per caratteri microbiologici e provenienza al ceppo 32 di Brooks e McColloch (1936, p. 326).

V° Gruppo di ceppi = Ps. pyocyanea (Gess.) Mig.

I caratteri da me osservati per esso corrispondono bene alla descrizione del De Rossi (1927) e del Puntoni (1930).

Quesiti tuttora insoluti relativi a questo gruppo di batteri fitopatogeni.

Nelle precedenti considerazioni ho cercato di spiegare le discordanze fra i risultati miei e di altri AA. senza ricorrere alla variabilità della specie. Ma la bibliografia prima passata in rassegna dimostra che effettivamente questa specie è molto variabile nei suoi caratteri fitopatologici e microbiologici, e che le differenze fra due ceppi attribuiti dalla classificazione attuale a questa specie spesso non sono minori di quelli intercorrenti fra questa specie e le specie affini, tanto da rendere molto problematica l'applicazione dell'ordinario concetto di specie a tutto il gruppo dei batteri *fluorescenti*.

Dalle conoscenze finora acquisite sul gruppo dei batteri *fluorescenti* fitopatogeni emergono i fatti seguenti: 1) Malattie diverse, per quanto sempre dello stesso tipo di *malattie del sistema parenchimatico*, sono prodotte su ospiti diversissimi da batteri di questo gruppo. 2) I ceppi isolati sono sempre simili, ma raramente identici dal lato fitopatologico e microbiologico; vanno spesso soggetti a dissociazione e ad altre forme di variazione non ancora ben studiate, talora accompagnate da variazioni di potere patogeno [cfr. i fatti di devirulentazione osservati dal V. Hall (1902, pp. 142-146), dalla Bryan (1928, p. 232), da Rosen e Bleecker (1933, p. 99), dal Rosen (1935, p. 239); le differenze di virulenza fra ceppo e ceppo osservate da Rosen e Bleecker (1933, p. 113), da C. O. Smith (1930, p. 239) e i fatti già allegati alle considerazioni sulle inoculazioni su buccia sana di limone; i fatti di virulentazione osservati da Rosen e Bleecker (1933, p. 99), e quelli osservati dal Clara (1934) per il *Ps. fluorescens* (Flugge) Migula]. 3) Le segnalazioni di molte malattie di questo gruppo sono saltuarie nel tempo e

nello spazio; il gruppo di batteri sembra tuttavia ubiquitario. In Italia in particolare è stata segnalata la batteriosi degli agrumi, costante ed ubiquitaria in tutte le zone agrumicole, e la batteriosi della violaciocca, segnalata soltanto una volta, nel 1912. 4) Le condizioni predisponenti sono in genere freddo, umidità, ferite; però esse non sembrano perfettamente uguali per tutte le malattie del gruppo, anche per malattie prodotte da ceppi identici: Fawcett, Horne e Camp hanno osservato in alcune zone della California solo *citrus blast*, in altre solo *black pit* (FAWCETT, HORNE e CAMP, 1923; H. S. FAWCETT, 1936, pp. 494-496); analoghe osservazioni ha fatto il CARNE (1926) per l'Australia. 5) Il batterio è capace di produrre talora una sostanza velenosa; non si conosce ancora il meccanismo d'azione di questa sostanza, e neppure la sua importanza nel determinare le sindromi delle malattie di questo gruppo.

A spiegazione di questi fatti si possono formulare più ipotesi: 1) Scarsa conoscenza da parte di molti fitopatologi della tecnica batteriologica, e difficoltà d'isolare il batterio, che forse anche in natura si trova spesso accentrato in piccoli *focolai d'infezione* e presto scompare, mentre la sua azione negli organi delle piante ospiti si estende nello spazio e si prolunga nel tempo. 2) Condizioni ambientali, che predispongono alla recettività per i batteri di questo gruppo, diverse per i diversi ospiti. 3) Esistenza di razze biologiche. 4) I batteri di questo gruppo hanno una tendenza notevole a variare in dipendenza di condizioni ambientali predisponenti, fatto la cui esistenza ed importanza s'intuisce sin d'ora anche per altri batteri fitopatogeni, ma che non è ancora affatto conosciuto nel suo intimo meccanismo [cfr. gli studi di ARK, 1937, sulla variabilità dell'*Erwinia amylovora* (Burr.) Com. S. A. B.].

Soltanto ulteriori studi potranno permettere di scegliere con sicurezza fra queste ipotesi. Si può prevedere sin d'ora che queste ricerche potranno mettere in luce fatti interessanti nel campo dell'epidemiologia di questo gruppo di malattie.

Tabella I.

Ricerche sui frutti ammalati naturalmente

Limone N.°	Esame macroscopico	Fig. N.°	Esame al binoculare	Esame microscopico	Isolamenti: tipo delle colonie	Ceppi
1		1	piccolissime cicatrici infossate?	sulla superf. est.: batt.	B. syringae	—
2		—	nulla	» sup. est.: batt., spore varie	nulla	—
3		—	— —	» sup. est.: batt., spore; in sezione: batt.		—
4	tacche giallo-brune talora più scure al centro	—	piccoliss. cicatrici infossate?		—	—
5		—	croste: coprono piccoliss. ferite?	sulla superf. est.: batt.	nulla	h
6		—	id.	— —	B. syringae	k
7		2	id.	— —	id.	—
8	tacche marrone alla periferia; centro alquanto più chiaro	3	id.	— —	nulla	—
9		—	— —	sulla sup. est.: batt.	B. syringae	—
10		—	piccoliss. ferita	in sezione: batt.	—	—
11	tacca nera	4	nulla	sulla superf. est.: batt.	B. syringae?	
13	tacca di 10 mm. diam., bruna molto chiara alla periferia, un po'più scura al centro, poco depressa	—	goccioline essudato batterico: fuoriescono da ferite?	id.	B. syringae	i
				— —	id.	—
14		—	1 tacca: cicatrice + altre 8: nulla	in sezione: batt.	B. syringae? / colonie gialle	j / η
15		—	piccoliss. cicatrice?	— —	B. syringae	l
16		—	2 tacch. con croste: coprono picc. ferite?	— —	id.	—
17		—	croste che coprono picc. ferite	— —	id.	—
18	tacche da brune a nerastre, colore abbastanza uniforme su tutta la superficie, ± depresse, ram. confluenti, da piccoliss. a 15 mm. diam.	—	picc. ferita aperta	in sezione: batt.	id.	—
19		—	crosta che copre piccoliss. ferita	— —	nulla	—
20		—	2 tacche con croste che coprono ferite	— —	B. syringae	–
21		—	id.	— —	id.	—
22		—	croste: coprono ferite?	— —	id.	m
23		—	2 tacche con croste: coprono ferite?	in sezione: batt.	id.	—
24		—	crosta: copre ferita?	— —	id.	—
25		—	nulla	— —	—	—
26		—	crosta che copre piccoliss. ferita	— —	—	n
27		—	croste: coprono piccoliss. ferite?	— —	—	—

Tabella I (*continuazione*).

Ricerche sui frutti ammalati naturalmente

Limone N.°	Esame macroscopico	Fig. N.°	Esame al binoculare	Esame microscopico	Isolamenti: tipo delle colonie	Ceppi
28	tacche da picoliss. fino a 17 mm. diam.; generalmente confluenti, colore (in complesso) bruno-nerastro; ad un esame più minuzioso (dall' esterno all'interno): 1) alone bruno chiaro irreg.; 2) anello bruno-nerastro; 3) cerchio gial.-bruno o gial.-sporco	—	3 tacche con croste: coprono picco-liss. ferite? + 1 con ferita + 1: nulla	in sezione: batt.	nulla	—
29		—	2 tacche con croste: coprono ferite? + 2 con ferite + 1 con goccia essudata + 1: nulla	id.	B. syringae	—
30		—	2 tacche: nulla	— —	id.	—
31	tacca di 20 mm. d., colore aranciato un po' più carico della buccia sana, al centro « rugosità giallogn. »	—	screpolature e croste che macro simulano la « rugosità giallognola »	in sezione: niente batt.	B. syringae colonie gialle	σ γ
32		—	2 tacche con croste: coprono ferite?	in sezione: batt.	—	—
33		—	crosta	— —	nulla	—
34		—	1 tacca con picc. ferita + 2 tacche con croste: coprono ferite?	in sezione batt., alcune ife	—	—
35	tacche tondeggianti, 4-13 mm. diam., isolate, raram. confluenti, margine generalm. netto, colore dal bruno-chiaro al nero, qualche volta alone, nel quale il colore digrada dal bruno al giallo, oppure in qualche punto del contorno il margine è sfumato	—	crosta che copre piccola ferita	— —	B syringae	—
36		—	id.	— —	id.	ε
37		—	picc. croste	in sezione: batt.	—	—
38		—	picc. croste	— —	B. syringae	q
39		—	1 tacca con picc. ferita + 1 tacca: nulla	— —	nulla	—
40		—	ferita	in sezione: batt., alcune ife	—	—
41		—	1 tacca con ferita + 1 tacca con crosta: copre ferita?	in sezione: batt.	—	—
42		—	nulla	id.	—	—
43		—	id.	— —	B. syringae	—
44		—	larga crosta: copre ferita?	in sezione: batt.	—	—
46		—	estese croste	in sezione: batt., alcune ife	nulla	—
47		—	1 tacca con est. croste + 1 tacca: nulla	in sezione: batt., parecchie ife	B. syringae	r

Tabella II.

Prove d'inoculazione artificiale

Ceppi	In frutti di limone			In germogli di lillà		In germogli di pero	
	Data	Risultati	Reisolamenti	Data	Risultati	Data	Risultati
a	16/3	28/3 : 6/6 tacche 3-5 mm: diam.	—	—	— —	—	— —
	16/4	23/4 : 3/3 » 6 » »	—	—	— —	—	— —
b	id.	23/4 : 3/3 » 7-8 » »	nulla	29/4	3/6 : 4/7 germ. appassiti (sin dal 12/5); tacche bruno-nere al punto di inoculaz.	29/4	7/5 : 5/8 germin. ammalati — 9/5 : 4/8 germ. completam. imbruniti + 4-8 germ. con tacche bruno-nere.
c	id.	26/4 : 3/3 » 6 » »	—	—	— —	—	— —
d	id.	23/4 : 3/3 » 8-10 » »	—	—	— —	—	— —
e	16/3	28-3 : 6/6 » 12-14 » »	—	—	— —	—	— —
	16/4	23/4 : 3/3 » 2-3 » »	—	—	— —	—	— —
f	16/3	28/3 : 6/6 » 6-8 » »	—	—	— —	—	— —
	16/4	26/4 : 3/3 » 2-3 » »	—	—	— —	—	— —
g	id.	26/4 : 3/3 » 7-8 » »	B. syringae	—	— —	—	— —
α	id.	26/4 : 3/3 picc. cicatrici	—	—	— —	—	— —
p	5/5	12/5 : 6/6 » »	—	5/5	3/6 : 3/3 germ. sani; piccol. cicatrice al punto d'inoculaz.	5/5	3/6 : 1/2 germ. sano + 1/2 germ. con macchie fogliari: dovute ad altra causa?
	12/5	9/6 : 12/12 » »	—	—	— —	—	— —
h	16/4	26/4 : 3/3 tacche 2-5 mm. diam.	—	—	— —	—	— —
k	id.	26/4 : 3/3 » 3-5 » »	—	—	— —	—	— —
	23/4	3/6 : 6/6 » 6-12 » »	—	—	— —	—	— —
i	16/4	26/4 : 3/3 » 5-10 » »	nulla	5/5	3/6 : 2/3 germ. appassiti (sin dal 25/5)	—	— —
	23/4	3/6 : 6/6 » 7-9 » »	—	—	— —	—	— —
j	5/5	10/5 : 6/6 picc. cicatrici	—	5/5	3/6 : 3/3 germ. sani	5/5	3/6 : 2/2 germ. sani
	12/5	9/6 : 12/12 cicatrici	—	—	— —	—	— —

Tabella II *(continuazione)*.

Prove d' inoculazione artificiale

Ceppi	In frutti di limone			In germogli di lillà		In germogli di pero	
	Data	Risultati	Reisolamenti	Data	Risultati	Data	Risultati
η	5/5	12/5 : 6/6 picc. cicatrici	—	—	— —	—	— —
l	id.	12/5 : 6/6 tacche 3-5 mm. diam.	B. syringae	5/5	3/6 : 2/3 germ. appassiti (sin dal 17/5)	5/5	3/6 : 2/2 germ. con leggere tumefazioni al punto d'inoculaz.; 1/2 germ. con una foglia parzialm. imbrunita.
m	id.	12/5 : 6/6 » 2-5 » »	nulla	id.	3/6 : 3/3 germ. appassiti (sin dal 12/5)	id.	3/6 : 2/2 germ. ciascuno con una foglia parzialmente imbrunita
n	id.	12/5 : 6/6 » 3-5 » »	—	id.	3/6 : 1/2 germ. appassiti (sin dal 9/5)	id.	id. id.
o	id.	7/5 : 6/6 cicatrici	—	id.	3/6 : 3/3 germ. sani	id.	3/6 : 2/2 germ. sani
	12/5	20/5 : 6/6 picc. cicatrici	—	id.	— —	—	— —
γ	5/5	12/5 : 6/6 » »	—	—	— —	—	— —
ε	id.	12 5 : 6/6 tacche 5-7 mm. diam.	B. syringae	—	— —	—	— —
q	id.	12/5 : 6/6 » 4-5 » »	—	5/5	3/6 : 3/3 germ. appassiti (sin dal 12/5)	5/5	3/6 : 1/2 germ. imbrunito (sin dall'11/5) + 1/2 germ. sano
r	id.	12/5 : 6/6 » 6-9 » »	—	id.	id. id.	id.	3/6 : 2/2 germ. imbruniti (sin dall' 11/5)
	15/7	9/8 : 6/6 » 3-4 » »	—	—	— —	—	— —
s	1/6	15/6 : 6/6 » 3-7 » »	—	—	— —	—	— —
Ps. pyoc.	16/4	26/4 : 3/3 picc. cicatrici	—	—	— —	—	— —
	5/5	12/5 : 6/6 » »	—	—	— —	—	— —
ϑ	15/7	9/8 : 6/6 cicatrici	—	—	— —	—	— —
	17/9	11/10 : 6/6 picc. cicatrici	—	—	— —	—	— —

Tabella III.

Alcune proprietà biochimiche

Ceppi	Acqua peptonata tornasolata + acidificazione (per il significato dei segni v. testo a pag. 258) 16 g.										Acqua peptonata + amido (acidificazione) 39 g.
	semplice	+ glucosio	+ fruttosio	+ galattosio	+ saccarosio	semplice	+ glicerina	+ mannite	+ maltosio	+ lattosio	
b	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
e	—	+	±	+	+	—	—	± decoloraz.	—	—	—
g	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
i	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
j	—	++	±	+	—	—	—	±	—	—	—
n	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
o	—	+++	+++	+	—	—	+ decoloraz.	+++	+++	—	—
p	—	+	±	+	+	—	—	—	—	—	—
r	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
s	—	+	±	+	+	—	—	±	—	—	—
α	—	+++	+++ decoloraz.	+++	+++	—	+ decoloraz.	+++ decoloraz.	+++	—	—
γ	—	+++	+++	+++	—	—	+ decoloraz.	+++	++	—	—
ε	—	+	+	+	+	—	±	± decoloraz.	—	—	—
η	—	+++	+++ decoloraz.	++	+++	—	+ decoloraz.	+++ decoloraz.	+++	—	—
Ps. pyocyan.	—	++ decoloraz.	—	++ ? decoloraz.	—	— decoloraz.	— decoloraz	— decoloraz.	—	—	—
ϑ	—	++	±	+	—	—	—	—	—	—	—
contr.	—	—	—	—	—	±	±	±	±	±	±

Tabella III *(continuazione)*.

Alcune proprietà biochimiche

Ceppi	Indolo 44 g.	NH_3 44 g.	H_2S 44 g.	$^{-}NO_3$ 20 g.	Gram.	Punto termico di morte pH 8,2	Punto termico di morte pH 6,7
b	—	+	—	$^{-}NO_3$	—	44°0 - 49°5	50°0 - 52°0
c	—	+	—	id.	—	id.	id.
g	—	+	—	id.	—	id.	48°3 - 50°0
i	—	+	—	id.	—	id.	50°0 - 52°0
j	?	+	—	id.	—	id.	48°3 - 50°0
n	—	+	—	id.	—	id.	50°0 - 52°0
o	—	+	+	$^{-}NO_2$ 48 h	—	49°5 - 55°0	id.
p	—	+	—	?	—	id.	52°0 - 54°3
r	—	+	—	$^{-}NO_3$	—	44°0 - 49°5	48°3 - 50°0
s	—	+	—	id.	—	id.	50°0 - 52°0
α	—	+	+	$^{-}NO_2$ 48 h	—	49°5 - 55°0	52°0 - 54°3
γ	—	+	+	id.	—	id.	50°0 - 52°0
ε	—	+	—	$^{-}NO_3$	—	44°0 - 49°5	48°3 - 50°0
η	—	+	+	$^{-}NO_2$ 48 h	—	49°5 - 55°0	50°0 - 52°0
Ps. pyocyan.	—	+	—	N_2 48 h	—	id.	> 54°3
ϑ	—	+	—	$^{-}NO_3$	—	id.	52°0 - 54°3
contr.	—	—	—	id.	—	—	—

Riassunto.

Viene passata in rassegna la bibliografia riguardante l'eziologia della *piticchia batterica* dei limoni, la sinonimia del batterio causale e la bibliografia italiana sulle malattie prodotte dal *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. e da batteri affini. La *piticchia batterica* viene studiata su frutti ammalati naturalmente e su frutti inoculati artificialmente. Col batterio causale della malattia sono stati infettati artificialmente germogli di lillà e di pero, producendo sindromi analoghe a quelle osservate da altri AA., che inducono a concludere che il germe può agire sull'ospite anche a mezzo di una sostanza velenosa. Di 16 ceppi batterici di diversa provenienza, sottoposti alle usuali ricerche microbiologiche, 8 vengono assegnati alla specie *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. in accordo coi risultati delle ricerche fitopatologiche; si espongono le proprietà microbiologiche di tutti i 16 ceppi studiati. Vengono messi in evidenza alcuni quesiti tuttora insoluti relativi al *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S. e batteri fitopatogeni affini, e si prospettano a loro spiegazione alcune ipotesi.

R. Stazione di Patologia Vegetale, Roma, 1939-XVII.

ALBERTO MEZZETTI.

RINGRAZIAMENTO.

Ringrazio vivamente il Direttore della R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma, prof. L. PETRI, per avermi ospitato durante l'esecuzione delle presenti ricerche — per le quali ha mostrato costante interessamento — e per aver accolto il mio scritto nelle pagine di questo Bollettino.

BIBLIOGRAFIA (1)

Ark P. A., 1937. — *Variability in the fire-blight organism, Erwinia amylovora.* « Phytop. », XXVII (1937), pp. 1-28.

Barker B. T. P., Grove O., 1914. — *A bacterial disease of fruit blossom.* « Ann. Appl. Biol. », I (1914-1915), pp. 85-97.

Barss H. P., 1915. — *Bacterial gummosis or bacterial canker of cherries.* « Oreg. Agr. Exp. Sta. Bien. Crop. Pest and Hort. Rpt. » (1913-1914), II (1915), pp. 224-240.

Berridge E. M., 1924. — *The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of certain plant parasites and saprophytes.* « Ann. Appl. Biol. », XI (1924), pp. 73-85.

Briosi G., Pavarino L., 1912. — *Una malattia batterica della Matthiola annua (Bact. matthiolae n. sp.).* « Atti Acc. Lincei, Classe Sc. Fis. Mat. Nat. », XXI (1912), pp. 216-220.

Brooks C., McColloch L. P., 1936. — *Some storage diseases of grapefruit.* « Journ. Agr. Res., LII (1936), pp. 319-351.

— — 1937. — *Some effects of storage conditions on certain diseases of lemons.* « Journ. Agr. Res. », LV (1937), pp. 795-809.

Bryan M. K., 1927. — *Beef infusion versus beef extract media.* « Phytop. », XVII (1927), pp. 413-414.

— 1928. — *Lilac blight in the United States.* « Journ. Agr. Res. », XXXVI (1928), pp. 225-235.

Burkholder W. H., 1938. — *A bacterial blight of stocks caused by Phytomonas syringae.* « Phytop. », XXVIII (1938), pp. 935-936.

Carne W. M., 1926. — *Citrus pit (Ps. citriputeale C. O. Smith).* « Journ. Dept. Agr. West. Australia », 2nd ser., III (1926), pp. 378-381.

Clara F. M., 1932. — *A new bacterial disease of pears.* « Science », LXXV (1932), p. 111.

— 1934. — *A comparative study of the green fluorescens bacterial plant pathogens.* « Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir 159 » (1934), 36 pp..

Coit J. E., 1916. — *Citrus blast, a new disease in California.* « Univ. Calif. Journ. Agr. », III (1916), pp. 234-235.

De Lourdes d'Oliveira M., 1936. — *Una doença bacteriana do Ligustrum Japonicum Thumb.* « Revista Agronomica », XXIV (1936), pp. 425-435.

De Rossi G., 1927. — *Microbiologia agraria e tecnica.* U.T.E.T., Torino, 1927.

---

(1) La data dopo il nome è la data di pubblicazione, la data tra parentesi indica l'annata o le annate comprese nel volume indicato del periodico, se si tratta di una pubblicazione di questo genere.

Doidge E. M., 1917 A. — *A bacterial spot of Citrus.* « Ann Appl. Biol. », III (1916-1917), pp. 53-81.

— 1917 B. — *A bacterial blight of pear blossoms occurring in South Africa.* « Ann. Appl. Biol. », IV (1917-1918), pp. 50-74.

Dop P., Gautié A., 1928. — *Manuel de technique botanique.* Lamarre, Paris, 1928.

Elliott E., 1930. — *Manual of bacterial plant pathogens.* Baillère, Tindall a. Cox, London, 1930.

Fawcett H. S., 1925. — *Observations on bark diseases of Citrus trees in Sicily.* « Phytop. », XV (1925), pp. 41-42.

— 1936. — *Citrus diseases and their control.* McGraw-Hill Book Co., New York a. London, 1936.

Fawcett H. S., Horne W. T., Camp A. F., 1921. — *Citrus blast and black pit.* « Calif. Citrograph », VI (1920-1921), p. 234.

— — — 1923. — *Id. id.* « Univ. Calif. Agr. Exp. Sta. Techn. Paper 5 » (1923), 36 pp..

Griffin F. L., 1911. — *A bacterial gummosis of cherries.* « Science », XXXIV (1911), pp. 615-616.

Hodgson R. W., 1918. — *Citrus blast.* « Quart. Bull. State Plant Bd. Florida », II (1918), pp. 123-130.

Klodnizky N. N., 1935. — *Milieux colloidaux pour la culture de microbes.* « Ann. Pasteur », LV (1935), pp. 486-490.

Labrousse M. F., 1932. — *La fonction fluoroscigène chez les bactéries phytopathogènes.* « Compt. Rend. Aca. de Sci. de Paris », (1932), estr., 2 pp. - Riass. in « Riv. Pat. Veg. », XXIV (1934), p. 143.

Lacey M. S., Dowson W. J., 1931. — *Studies in bacteriosis. XVIII. Bacterial canker of apple trees.* « Ann. Appl. Biol. », XVIII (1931), pp. 30-36.

Laubert R., 1927. — *Die Fliederseuche.* « Gartenwelt », XXXI (1927), pp. 374-375. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », VII (1928), p. 246.

Lee H. A., 1917. — *A new bacterial Citrus disease.* « Journ. Agr. Res. », IX (1917), pp. 1-8.

Levine M., Schoenlein H. W., 1930. — *A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms.* Baillère, Tindall a. Cox, London, 1930.

Lewcock H. K., 1926. — *A Citrus bacteriosis occurring in South Australia.* « Phytop. », XVI (1926), p. 80.

Maerz A., Paul M. R., 1930. — *A dictionary of color.* McGraw-Hill Book Co., New York a. London, 1930.

Mallmann W. L., Gallo F., 1933. — *Studies on the dissociation of the Brucella group.* « Journ. Agr. Res. », XLVI (1933), pp. 267-279.

Nelson R., 1933. — *Some storage and transportational diseases of Citrus fruits apparently due to suboxidation.* « Journ. Agr. Res. », XLVI (1933), pp. 695-713.

Petri L., 1929 A. — *Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1928.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », IX (1929), pp. 1-65.

PETRI L., 1929 B. — *Batteriosi dei rametti e mal del secco dei limoni in Sicilia.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », IX (1929), pp. 282-290.

— 1931. — *Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1930.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », XI (1931), pp. 1-50.

— 1933 A. — *Le alterazioni dei frutti degli agrumi.* Arti Grafiche Pizzi e Pizio, Milano, 1933.

— 1933 B. — *Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1932.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », XIII (1933), pp. 1-73.

PUNTONI V., 1930. — *Manuale di microbiologia medica.* Bucciarelli, Roma. 1930.

RABINOVITZ-SERENI D., 1932. — *Sopra una malattia batterica dei limoni.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », XII (1932), pp. 278-284.

ROSE D. H., 1917. — *Blister spot of apples and its relation to a disease of apple bark.* « Phytop. », VII (1917), pp. 198-208.

ROSEN H. R., 1935. — *Rose blast induced by Phytomonas syringae.* « Jour. Agr. Res. » LI (1935), pp. 235-243.

ROSEN H. R., BLEECKER W. L., 1933. — *Comparative serological and pathological investigations of the fire-blight organism and a pathogenic, fluorescent group of bacteria.* « Journ. Agr. Res. », XLVI (1933), pp. 95-119.

SAVASTANO G., 1932. — *Ricerche sperimentali sul marcio dei frutti degli agrumi. I. Specie batteriche e fungine isolate ed alcune loro caratteristiche biologiche.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », XII (1932), 306-342.

SAVASTANO G., FAWCETT H. S., 1931. — *Ricerche sperimentali sul decorso patologico del mal secco nel limone.* « Ann. R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale », XI (1930-1931), pp. 1-37.

SAVASTANO L., 1921 A. — *Gommosi secca negli agrumi.* « R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale, Boll. 41 » (1921).

— 1921 B. — *Sulla gommosi secca o mal secco degli agrumi.* « R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale Boll. 42 », (1921), 7 pp.

— 1924 A. — *Delle epidemie italiane del mal secco negli agrumeti, albicoccheti, ficheti, noceti e gelseti.* « Ann. R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale », VII (1923-1924), pp. 89-176.

— 1924 B. — *La cura del mal secco negli alberi fruttiferi.* « R. Staz. Sper. Agrumic. Fruttic. Acireale, Boll. 51 » (1924), 15 pp..

— 1925. — *Sulle cause aggravanti il mal secco negli agrumeti del versante orientale della Sicilia.* « R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale, Boll. 54 » (1925), 7 pp..

SIBILIA C., 1929. — *Alcuni parassiti dei frutti di limone.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », IX (1929), pp. 292-297.

SMITH C. O., 1913. — *Black pit of lemon.* « Phytop. », III (1913), pp. 277-281.

— 1926. — *Similarity of bacterial diseases of avocado, lilac and Citrus in California.* « Phytop. », XVI (1926), pp. 235-236.

SMITH C. O., 1928. — *A study of Citrus blast and some allied organisms.* « Phytop. », XVIII (1928), p. 952.

— 1931. — *Pseudomonas prunicola and Bacterium citriputeale.* « Phytop. », XXI (1931), p. 1091.

SMITH C. O., FAWCETT H. S., 1930. — *A comparative study of the Citrus blast bacterium and some other allied organisms.* « Journ. Agr. Res. », XLI (1930), pp. 233-246.

SMITH E. F., 1905, 1911, 1914. — *Bacteria in relation to plant diseases.* Carnegie Institution, Washington, 3 voll., 1905, 1911, 1914.

SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS, 1933-1938. — *Manual of methods for pure culture study of bacteria.* Ed. The Comitee on Bacteriological Tecnich of The S.A.B., Geneva (N.Y.), ultima ediz. pubblicata dal 1933 in poi.

VAN HALL C. J. J., 1902. — *Bijdragen tot de kennis der bakterieele plantenziekten.* Coöperatieve Drukkerij-Vereeniging « Plantijn », Amsterdam, 1902.

WILSON E. E., 1931. — *A comparison of Pseudomonas prunicola with a canker-producing bacterium of stone fruit-trees in California.* « Phytop. », XXI (1931), pp. 1153-1161. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XI (1932), pp. 310-311.

— 1933 A. — *Bacterial canker of Prunus spp. in California.* « Phytop. », XXIII (1933), pp. 36-37. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XII (1933), p. 455.

— 1933 B. — *Bacterial canker of stone-fruit trees in California.* « Hilgardia », VIII (1933), pp. 83-123. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XIII (1934), pp. 451-452.

— 1934 A. — *A bacterial canker pear trees new to California.* « Phytop. », XXIV (1934), pp. 534-537. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XIII (1934), pp. 641-642.

— — 1934 B. — *Variability of Pseudomonas cerasi in physical characteristcs of growth on solid media.* « Phytop. », XXIV (1934), pp. 548-550. Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XIII (1934), p. 642.

— 1936. — *Symptomatic and etiologic relations of the canker and the blossom blast of Pyrus and the bacterial canker of Prunus.* « Hilgardia », X (1936), pp. 213-240. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XVI (1937), pp. 328-329.

WILSON R. D., 1936. — *A bacterial disease of snake beans.* « Journ. Proc. Roy. Soc. N.S.W. », LXIX (1936), pp. 215-223. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XV (1936), p. 772.

WORMALD H., 1928. — *Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain. I. Preliminary note on bacteriosis in plum and cherry trees.* « Ann. Rept. East Malling Res. Sta. », 1926 a. 1927, II Supplement (1928), pp. 121-127. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », VIII (1929), pp. 182-183.

— 1930. — *Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain. II. Bacte-*

rial shoot wilt of plum trees. « Ann. Appl. Biol. », XVII (1930), pp.725-744. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XI (1932), pp. 57-58.

WORMALD H., 1931. — *Bacterial diseases of stone-fruits trees in Britain. III. The symptoms of bacterial canker in plum trees.* « Journ. Pomol. a. Hort. Science », IX (1931), pp. 239-256. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XI (1932), p. 379.

— 1932. — *Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain. IV. The organism causing bacterial canker of plum trees.* « Trans. Brit. Mycol. Soc. », XVII (1932), pp. 157-169. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XII (1933), p. 227.

— 1937. — *Bacterial diseases of stone-fruit trees in Britain. VI. Field observations on bacteriosis of sweet cherry trees.* « Journ. Pomol. », XV (1937), pp. 35-48. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XVI (1937), pp. 691-692.

WORMALD H., HARRIS R. V., 1937. — *Notes on plant diseases in 1936.* « Rept. East Malling Res. Sta. », 1936, (1937), pp. 187-193. - Riass. in « Rev. Appl. Mycol. », XVI (1937), p. 756.

OSSERVAZIONI ALLE FIGURE

Le microfotografie riprodotte nelle figg. nel testo e fuori testo non sono state ritoccate. Le macrofotografie riprodotte nelle figg. nel testo e fuori testo hanno subìto solo leggeri ritocchi, che non interessano le parti significative delle fotografie stesse.

Fotografie dell'autore.

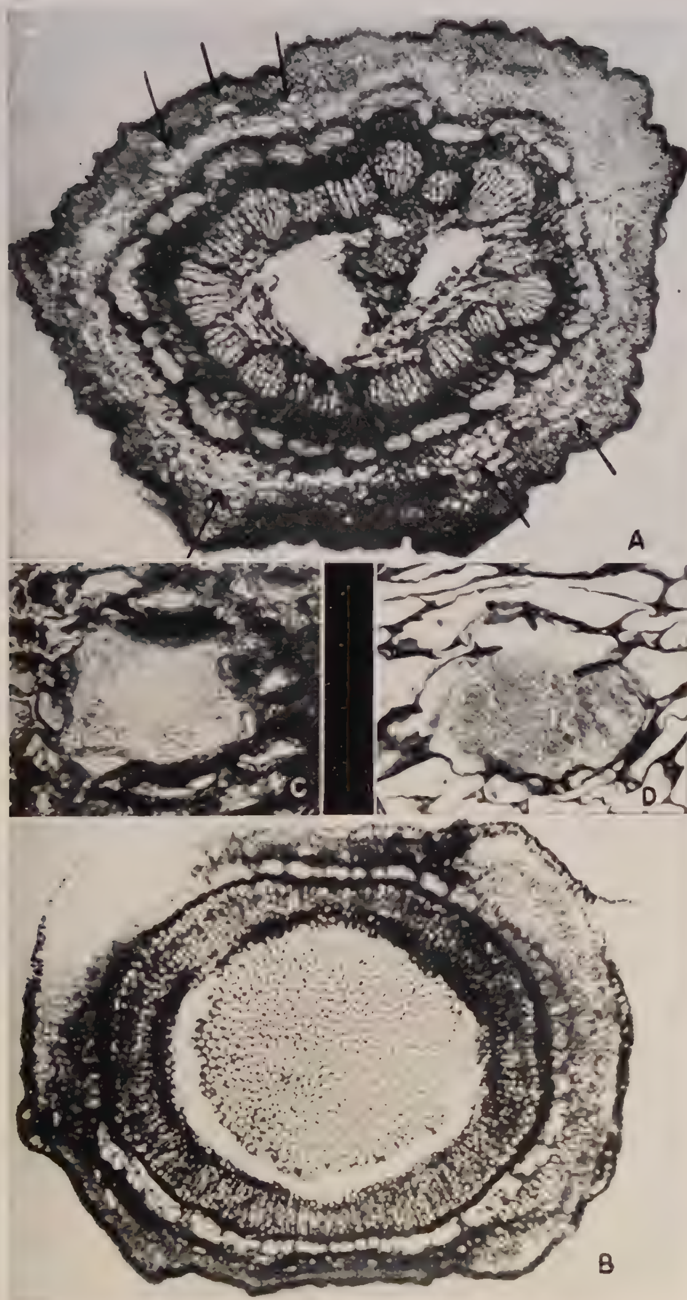
SPIEGAZIONI DELLE TAVOLE

TAVOLA VII.

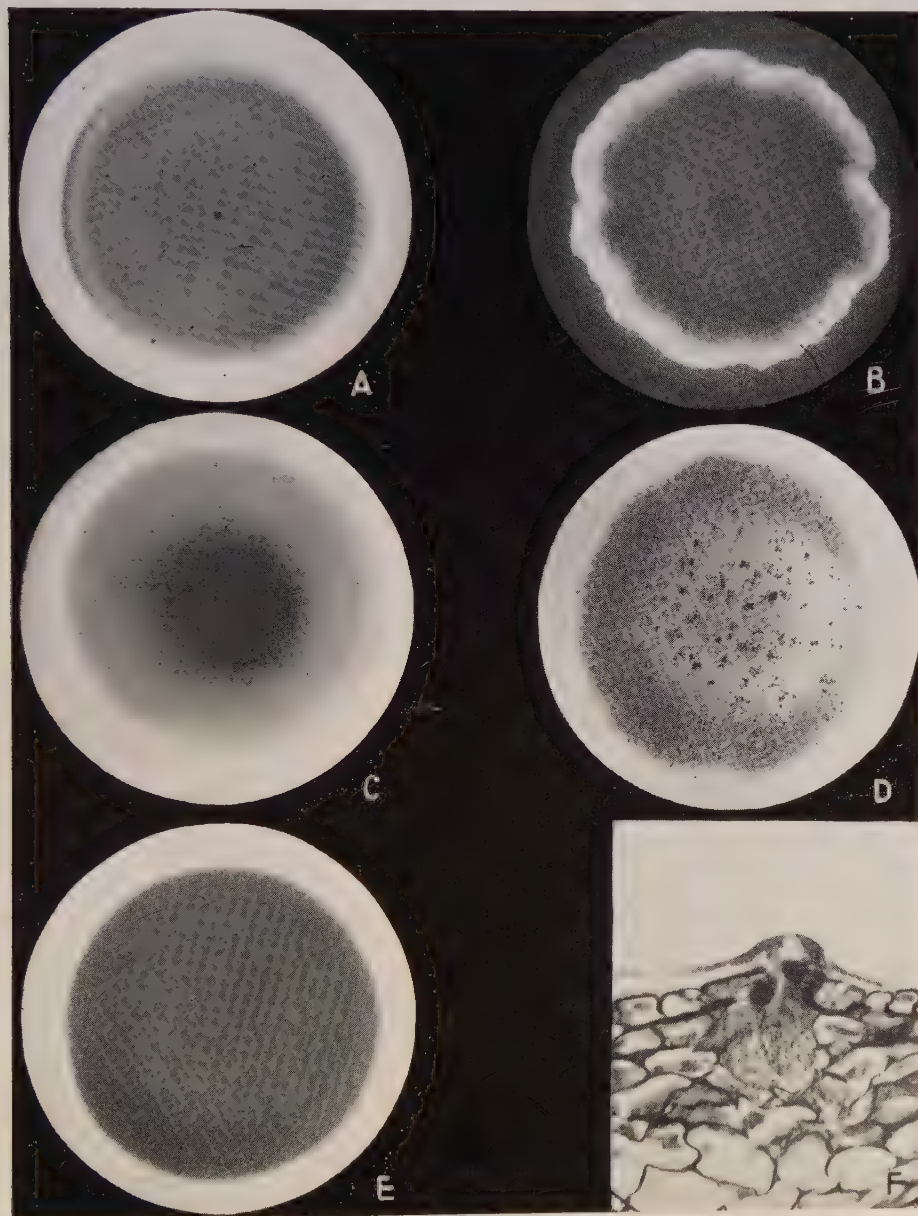
Fig. *A*. — Sezione di un germoglio di pero inoculato artificialmente con *Bact. syringae* (V.H.) E. F. S. (ceppo *b*), fatta 10 mm. sopra il punto d'inoculazione. Le frecce indicano delle lacune piene di batteri nel parenchina corticale profondo. Da materiale fresco. Piccolo ingrandimento.

Fig. *B*. — Sezione di un germoglio di lillà inoculato artificialmente con *Bact. syringae* (ceppo *r*), fatta 2 mm. sopra il punto d'inoculazione. Osservare la lacuna formatasi fra protoxilema e midollo, che è piena di batteri. Da materiale fresco. Piccolo ingrandimento.

Fig. *C*. — Sezione di un germoglio di pero inoculato artificialmente con *Bact. syringae* (V. H.) E.F.S. (ceppo *b*), fatta 1 mm. sopra il punto d' inoculazione. Lacuna nel parenchima corticale profondo piena di batteri. Da materiale fresco. Ingrandimento circa 320 ×.

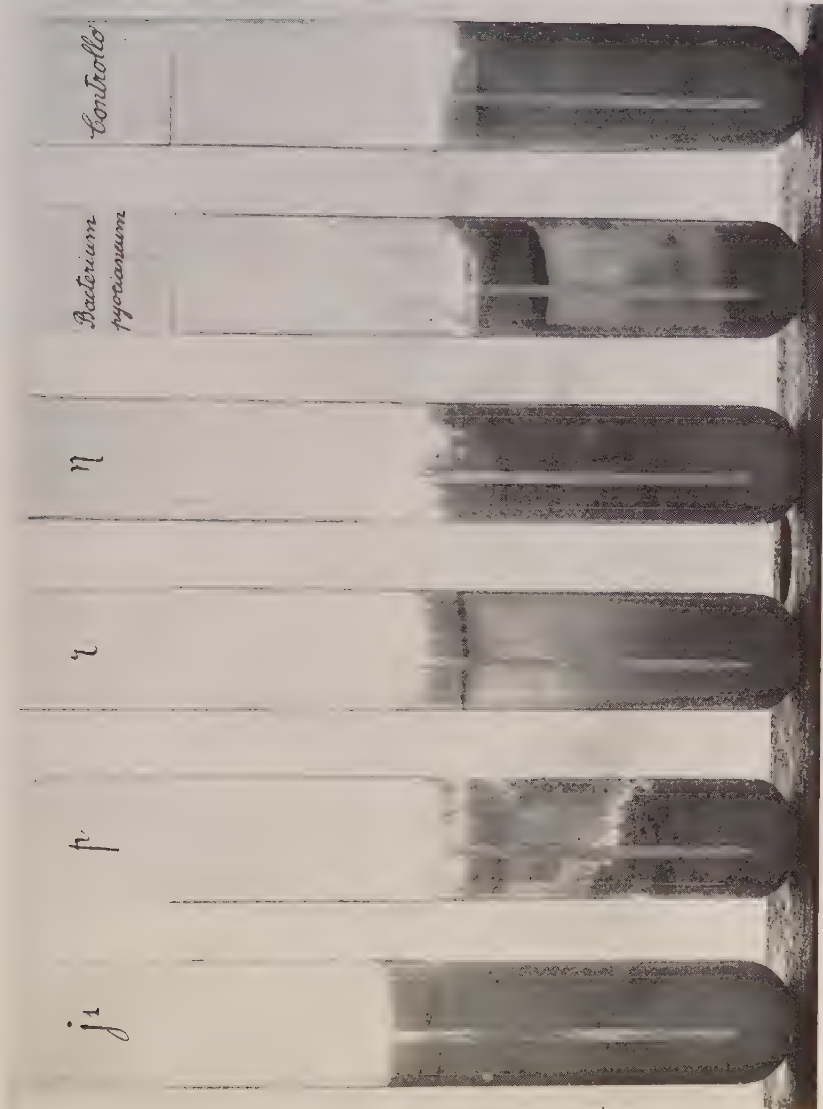


Mezzetti A. — *Ricerche sulla «piticchia batterica»*, ecc.



Mezzetti A. — *Ricerche sulla «piticchia batterica»*, ecc.


A
B
C
D
E
F
G
H
I
L
M
N
O
P
Q
R
S



Mezzetti A. — *Ricerche sulla «piticchia batterica»*, ecc.

Fig. *D*. — Sezione di buccia di limone inoculato artificialmente con *Bact. syringae* (V. H.) E.F.S.. Lacuna nel parenchima corticale piena di batteri. Da materiale imparaffinato, colorato con ematossilina Delafield-safranina. Ingrandimento circa 320 ×.

TAVOLA VIII.

Fig. *A*. — Colonia tipica di *Bact. syringae* (V.H.) E. F. S. (ceppo *g*) su agar infuso carne peptonato. Età: 3 g. a 26°. Ingrandimento 13 ×.

Fig. *B*. — Colonia di tipo *rugoso* di *Bact. syringae* (V. H.) E.F.S. (ceppo *b*) su agar infuso carne peptonato. Età: 3 g. a 26°. Ingrandimento 11 ×.

Fig. *C*. — Colonia di tipo aberrante del ceppo *fluorescente p* su agar infuso carne peptonato. Età: 4 g. a 26°. Ingrandimento 8 ×.

Fig. *D*. — Colonia di tipo aberrante di *Ps. pyocyanea* (Gess.) Mig. su agar infuso carne peptonato. Età: 4 g. a 26°. Ingrandimento 8 ×.

Fig. *E*. — Colonia tipica del ceppo *fluorescente* δ su agar infuso carne peptonato. Età: 4 g. a 26°. Ingrandimento 9 ×.

Fig. *F*. — Sezione di buccia di limone inoculato artificialmente con *Bact. syringae* (V. H.) E. F. S.. Camera stomatica e cellule adiacenti ripiene di batteri che fuoriescono dallo stoma sotto forma di una gocciolina di essudato. Da materiale imparaffinato colorato con ematossilina Delafield-safranina. Ingrandimento circa 410 ×.

TAVOLA IX.

Figg. *A* e *B*. — Cellule di due culture giovani di *Bact. syringae* (V. H.) E.F.S. (ceppi γ ed ϵ) su agar infuso carne peptonato. In *A* s'intravedono le capsule che circondano i batteri. Colorato con liquido di Ziehl. Ingrandimento circa 1475 ×.

Fig. *C*. — Cellule di una cultura giovane del ceppo *bruno j* su agar infuso carne peptonato. Colorazione con liquido di Ziehl. Ingrandimento circa 1475 ×.

Figg. *D* ed *E*. — Cellule di due culture giovani dei ceppi *gialli o* e *a* su agar infuso carne peptonato. Colorazione con liquido di Ziehl. Ingrandimento circa 1475 ×.

Figg. *F* e *H*. — Cellule di due culture giovani dei ceppi *fluorescenti p* e δ su agar infuso carne peptonato. Colorazione con liquido di Ziehl. Ingrandimento circa 1475 ×.

Fig. *G*. — Cellule di una cultura giovane di *Ps. pyocyanea* (Gess.) Mig. su agar infuso carne peptonato. Colorazione con liquido di Ziehl. Ingrandimento circa 1475 ×.

Figg. *I*, *L* e *M*. — Cellule ciliate di tre culture giovani di *Bact. syringae* (V.H.) E.F.S. (ceppi *b*, *e*, *r*) su agar infuso carne peptonato. Colorazione sec. Lancereaux. Ingrandimento circa 940 ×.

Figg. *N*, *Q*, *P*. — Cellule ciliate di tre culture giovani dei ceppi *gialli* *o*, α e γ su agar infuso carne peptonato. Colorazione sec. Lancereaux. Ingrandimento circa 940 ×.

Fig. *O*. — Cellule ciliate di una cultura giovane di *Ps. pyocyanea* (Gess.) Mig. su agar infuso carne peptonato. Colorazione sec. Lancereaux. Ingrandimento circa 940 ×.

Figg. *R* e *S*. — Cellule ciliate di due culture giovani dei ceppi fluorescenti *p* e δ su agar infuso carne peptonato. Colorazione sec. Lancereaux. Ingrandimento circa 940 ×.

Tavola X.

Fig. unica. — Culture dei ceppi *bruno j*, *fluorescente p*, *Bact. syringae* (V. H.) E.F.S. (ceppo *r*), *giallo n*, *Ps. pyocyanea* (Gess.) Mig. in provette di latte tornasolato. Età: 25 g. a 26°.

Il marciume dell' insalata causato da "Sclerotinia minor„ Jagg.

Da tempo sono noti in Italia gli inconvenienti che causa alla produzione casalinga ed industriale della insalata il polifago parassita *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Sacc. et Trott. (1), agente di marciume in questa e in numerose altre piante orticole (v. fig. 1). Finora, al contrario, non son mai stati lamentati nel nostro Paese danneggiamenti del prezioso ortaggio dovuti all'altra specie di *Sclerotinia* capace di produrre la medesima malattia, ma in forma assai più grave, e cioè la *Scl. minor* Jagg.

La *Scl. minor* fu descritta (2) per la prima volta nel 1920 in America dallo JAGGER che da tempo l'aveva osservata, in coltivazioni di lattuga all'aperto ed in serra, in diverse località del Nord America.

Il micete però era stato di già rinvenuto, fin dal 1900, sempre in America (nello stato del Massachusetts), dallo SMITH il quale, riscontrandolo insieme alla *Scl. sclerotiorum* l'aveva considerato come una forma degenerata, a sclerozi più piccoli, di tale specie (3). Del pari DUGGAR nel 1909 aveva segnalato l'esistenza di un fungo simile a quello dello Smith su piante di insalata vicino a Boston e New York (4).

---

(1) La denominazione specifica di *Scl. sclerotiorum* va estesa anche alla *Scl. libertiana* Fuck. essendo stata dimostrata l'identità delle due specie e dovendo la prima prevalere per ragioni di priorità.

(2) JAGGER I. C., Sclerotinia minor *n. sp., the cause of a decay of lettuce, celery, and other crops.* « Journ. Agr. Res. », **20**, 1920, pp. 331-334.

(3) SMITH R. E., Botrytis *and* Sclerotinia: *their relation to certain plant diseases and to each other.* « Bot. Gaz. », **29**, 1900, pp. 369-407.

(4) DUGGAR B. M., *Fungous diseases of plants.* Boston, 1909. Citato in JAGGER, p. 331.

Lo JAGGER isolò il primo ceppo nel 1911 e successivamente altri nel 1912 e nel 1914 nello Stato di New York, nel 1919-1920 nella Florida, e quasi contemporaneamente gli veniva indicata la presenza del parassita, sempre sull'insalata, dalla Pennsylvania. I numerosi ceppi, da cui ottenne anche le fruttificazioni ascofore, mostrarono per i diversi anni in cui lo studioso americano li tenne in osservazione delle caratteristiche molto costanti, ben distinte da quelle di *Scl. sclerotiorum*, che non gli lasciarono alcun dubbio (1) di trovarsi di fronte ad una entità specifica nuova, inconfondibile specialmente per le piccole dimensioni degli sclerozi e degli organi della riproduzione sessuata.

Dopo la messa a punto dello JAGGER la nuova *Sclerotinia* assume una importanza fitopatologica di primissimo ordine. Essa viene scoperta in tutte le parti degli Stati Uniti (2), in Inghilterra (3), in Francia (4), in Germania (5), nel Giappone (6) e non solo sui vari tipi di

---

(1) Già fin dal 1913 lo JAGGER aveva supposto che il fungo a piccoli sclerozi riscontrato dallo SMITH fosse una nuova specie (The small lettuce *Sclerotinia*, an undescribed species. « Phytopath. », **3**, 1913, p. 74).

(2) WEBER G. F. and FOSTER A. C., *Diseases of lettuce, romaine, escarole and endivie.* « Florida Agr. Exp. Sta. Bull. 195 », 1928, pp. 303-333.

(3) KEAY M. A., *A study of certain species of the genus* Sclerotinia. « Ann. Appl. Biol. », **26**, 1939, pp. 272-346.

(4) LABROUSSE F., *La maladie des laitues en Alsace et le* Sclerotinia minor *Jagger.* « Rev. Path. Vég. et Entom. Agric. », **17**, 1930, pp. 369-374. ROSELLA E., *La maladie du collet de la laitue, ses causes et ses remèdes.* « Progr. Agric. et Vit. », **107**, 1937, pp. 496-497; 514-515; 537-539.

(5) FLACHS K., *Durch* Sclerotinia minor *Jagg. hervorgerufene Salatfäule und Versuche zu ihrer Bekämpfung.* « Gartenbauwissenschaft », **5**, 1931, pp. 541-556; NOLL J. und SCHANDER H., *Beobachtungen über Schädingungen an Salat, insbesondere die Salatfäule, und Versuche zu ihrer Bekämpfung durch Bodendämpfung.* « Obst u. Gemüseb. », **82**, 1936, pp. 5-6; WASEWITZ H., *Beiträge zur Biologie und Bekämpfung der durch* Sclerotinia minor *Jagg. verursachte Salatfäule.* « Angew. Bot. », **20**, 1938, pp. 70-118; IDEM, *Die Salatfäule und ihre Bekämpfung.* « Kranke Pflanze », **14**, 1937, pp. 71-73.

(6) IKATA S., *Fungous diseases of the insect-powder plant.* « Ann. Phytopath. Soc. of Japan », **2**, 1928, pp. 140-158.

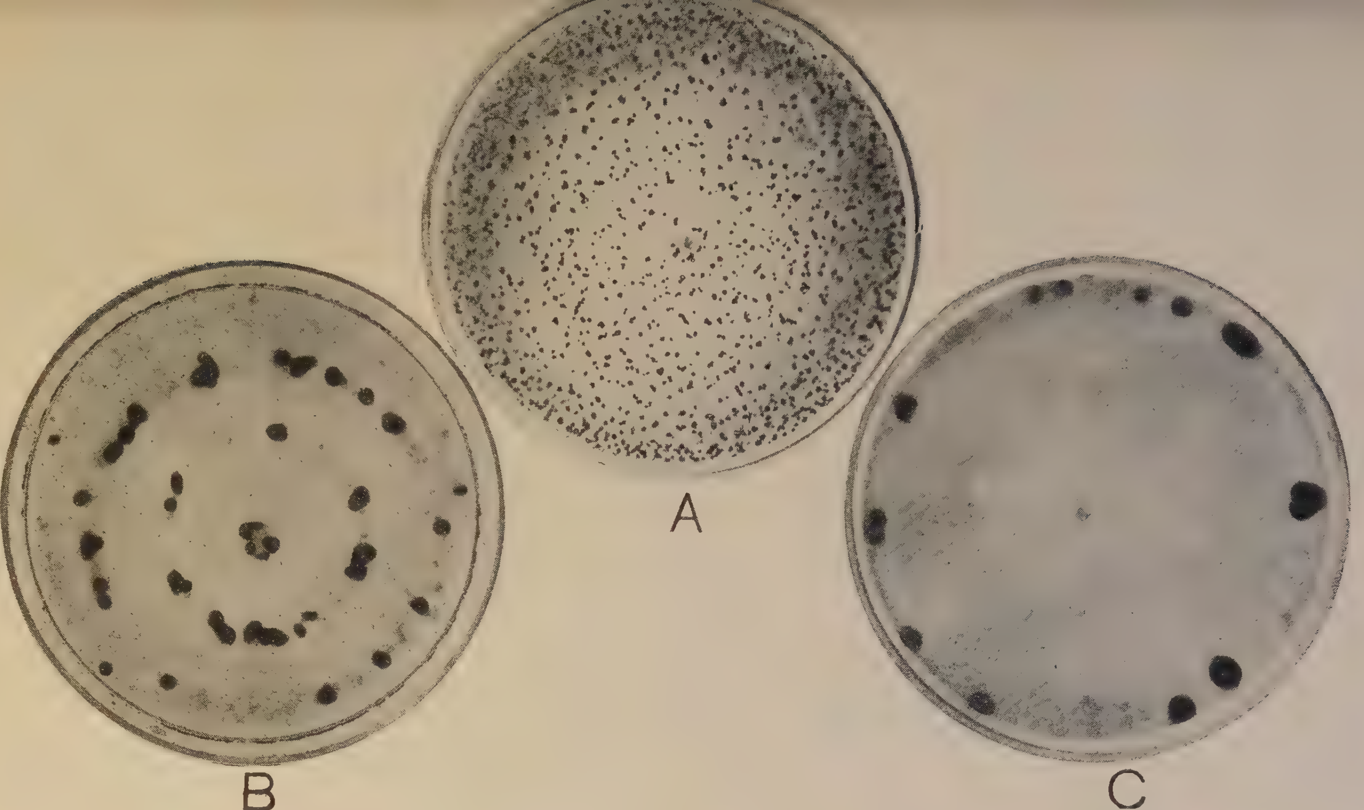


Fig. 1. — Colonie di *Sclerotinia minor* Jagg. (A), *Scl. trifogliorum* (B), *Scl. sclerotiorum* (Lib.) Sacc. et Trott. sviluppatesi a 25° C. su agar-carote.

insalata, ma anche su sedano, barbabietole, ravanelli, asparagi, fagioli ed altri ospiti, in coltivazioni all'aperto e sotto vetri. Ovunque il parassita assume una diffusione a carattere epidemico causando danni rilevantissimi (1). Attualmente, e in modo particolare in America, la *Scl. minor* è considerata uno dei più pericolosi nemici dei vari tipi di insalate.

È un fatto quindi di particolare rilievo l'aver constatato che anche in Italia il marciume dell'insalata può essere prodotto da questo parassita. La malattia si è manifestata nella primavera del 1939 a Castel Gandolfo (Roma) nelle coltivazioni orticole della Villa Pontificia (2); qui, a cominciare dalla fine di marzo e nei mesi successivi una notevole percentuale dei cespi di insalata a cappuccio e di cicoria andava soggetta ad un rapido ed improvviso deperimento che si concludeva con la morte per marciume delle piante intere. Sulla parte aerea dei cespi uccisi od in via di deperimento non si osservava, nè si riusciva ad isolare, altro che organismi banali come la *Botrytis cinerea* e molti batteri senza che ad essi, in base all'esame dei caratteri presentati dalle piante ammalate e delle condizioni ambientali in cui queste crescevano, si potesse attribuire la responsabilità del marciume stesso. La causa di questo rimase inspiegabile fino a che, durante un sopralluogo, potei rilevare che l'inizio del marciume si verificava sempre nella parte radicale della pianta, specialmente nella zona del colletto, e che nel fittone dei soggetti morti — che rimaneva nel terreno quando si cercava di strappare il cespo — erano presenti dei piccolissimi sclerozi neri i quali tappezza-

(1) Wasewitz (l. c.) calcola ad esempio che il marciume da *Scl. minor* nella sola regione del Wiesbaden (Germania) produca annualmente un danno di 50-70.000 R.M., potendosi riscontrare perdite fino dell'80% del prodotto.

(2) Desidero ringraziare vivamente il Direttore della Villa Pontificia di Castel Gandolfo, Comm. Avv. Bonomelli, per le cortesie usatemi durante i sopralluoghi e nel procurarmi il materiale necessario alle mie ricerche.

vano quasi uniformemente la cavità lasciata dalla scomparsa per disfacimento del midollo centrale. E con una osservazione più accurata i medesimi sclerozi si pote-



Fig. 2. — Insalata a cappuccio uccisa in 3 giorni dalla *Scl. minor* inoculata attraverso ferita nella zona del colletto.

vano individuare, frammisti al terreno, sulla superficie esterna del fittone.

Il facile ottenimento, partendo da tali sclerozi, di colonie di un fungo che cresceva benissimo su substrati artificiali e che, inoculato su piante sane, riproduceva la malattia (v. fig. 2) non mi lasciarono alcun dubbio circa la sua capacità patogena per gli ospiti su cui l'avevo osservato; tale convinzione era poi avvalorata dallo

studio dei suoi caratteri morfologici e culturali che permetteva la identificazione con la specie dello JAGGER (1) sul cui parassitismo esiste, come si è visto, un'ampia bibliografia.

Ritengo che la definizione della causa del marciume di Castel Gandolfo abbia un interesse ed un significato di più larga portata di quanto possa sembrare a prima vista. A mio parere, infatti, la *Scl. minor* non è limitata alla località in cui l'ho riscontrata, ma deve essere abbastanza diffusa in Italia. Il fatto che essa non sia stata fino ad ora individuata può dipendere dallo scarso sviluppo della infezione nella parte aerea della pianta e dalla rapida invasione delle foglie degli ortaggi in via di deperimento da parte di molti microrganismi a carattere emiparassitario e saprofitario; quando il materiale fitopatologico relativo a tale deperimento arriva in laboratorio per l'esame, questi microrganismi — che hanno nel frattempo invaso tutti i tessuti — possono essere ritenuti gli agenti del marciume, e se non altro riescono a mascherare la presenza del vero parassita. Anche le semine dei tessuti ammalati da piante in simili condizioni non sono favorevoli per la messa in evidenza della *Scl. minor* che è comunemente sopraffatta dalle forme fungine o batteriche saprofitarie. Nel caso di Castel Gandolfo ho trovato molto frequente la *Botrytis vulgaris*, i cui voluminosi sclerozi, presenti abbondantemente nelle scatole di cultura, facilmente distraevano l'attenzione dai piccoli corpiccioli della *Sclerotinia* che sotto la coltre delle fruttificazioni conidiche di questo vigoroso deuteromicete fossero riusciti per avventura a differenziarsi.

---

(1) Il Prof. H. H. WHETZEL del New York State College of Agriculture di Ithaca a cui, dopo la identificazione, inviai una cultura del mio fungo per un ulteriore controllo, mi risponde (con lettera in data 16 ott. 1939): « You inquire particularly about the culture, your N. 5809, attacking the roots of cicoria. You are quite right in your assumption that this is *S. minor* Jagger. It is a very tipical culture of that fungus.... ».

Alla *Scl. minor* è probabile che siano da attribuire diversi casi di deperimento per marciume delle coltivazioni di insalata e di cicoria che si verificano in più parti d'Italia — segnalati anche a questa Stazione e dei quali io stesso ho avuto occasione di esaminare il materiale relativo — la cui eziologia era rimasta finora incerta o si faceva risalire a fenomeni di parassitismo che non giustificavano i caratteri sintomatologici ed epidemiologici del marciume stesso.

Per tali ragioni mi è parso che non fosse privo di interesse, scientifico e pratico, eseguire delle ricerche bibliografiche e sperimentali sulla malattia che produce la *Scl. minor*: interesse scientifico, poichè molti punti della biologia e morfologia di questo micete non sono ancora chiariti e meritava d'altronde studiare il comportamento e le capacità parassitarie del ceppo isolato in Italia; interesse pratico, data la grande importanza che riveste per l'economia nazionale la cultura (1), specialmente quella industriale, dei vari tipi di insalata, cultura che alimenta una forte esportazione verso i paesi dell'Europa centrale e settentrionale (2); e tale impor-

---

(1) In Italia l'insalata si coltiva ovunque; la pianura padana e la cerchia alpina non si prestano però molto bene alla cultura industriale. I tipi di insalata che trovano migliore successo culturale e commerciale sui mercati esteri e nazionali sono, in ordine di importanza, le « cappuccie » (*Lactuca sativa capitata*), le « romane » (*Lactuca sativa longifolia*), le « scarole » (*Cichorium endivia latifolium*), le « endivie » (*Cichorium endivia crispum*). Le varietà che dovrebbero trovare largo impiego sono la Trocadero, la Perpignano, la Preferita fra le « cappuccie », la Scarola fiorentina fra le « scarole ».

Il periodo di richiesta delle insalate decorre dal novembre fino a tutto maggio e si intensifica nei mesi più freddi . (Dalla Circolare N. 4 « *Per il miglioramento della produzione e della esportazione della insalata* » dell'Istituto Naz. Fascista per il Commercio Estero, pubblicata nell'agosto 1939).

(2) Da un'altra circolare emessa nel settembre 1939 dall'Istituto Nazionale Fascista per il commercio estero, risulta che nella campagna 1938-1939 le spedizioni di insalata all'estero hanno toccato i 5200 vagoni a carico completo con un aumento notevolissimo rispetto alle campagne

tanza consiglia che siano quanto meglio e più conosciute le cause nemiche all'allevamento ed al perfetto sviluppo del prezioso ortaggio specialmente se queste possono assumere, come l'infezione della *Scl. minor*, un carattere epidemico.

Caratteri della malattia.

La malattia si manifesta specialmente quando i cespi d'insalata sono prossimi a raggiungere la maturità commerciale. I primi sintomi consistono in un appassimento e rilassamento delle foglie più esterne che poi ingialliscono, divengono brune ed infine si adagiano sul terreno (v. Tav. XI). Il fenomeno si estende via via alle foglie sempre più interne: nell'insalata a cappuccio le foglie riunite nel « cuore » centrale rimangono normali più a lungo; col tempo però anch'esse si alterano e cadono tutte assieme sul suolo in una massa informe, scura, marcescente. Le foglie ingiallite od imbrunite che vengono a contatto con la terra vanno soggette ad una rapida distruzione, specialmente se l'ambiente è umido, ad opera della flora batterica e fungina ubiquitaria che ivi si trova. Le foglie centrali del « cuore » sono invece interessate da un processo di disfacimento acquoso che si inizia prima del loro afflosciamento.

Contemporaneamente alla manifestazione dei sintomi nella parte aerea si nota nella porzione superiore del fittone radicale affiorante dal terreno, nella cosiddetta zona del colletto, lo sviluppo di una leggera muffa biancastra che può risalire e invadere i piccioli delle foglie che da

---

precedenti. Tale incremento va attribuito non solo alle condizioni avverse alla cultura dell'insalata che si sono verificate nei paesi importatori, ma anche alla migliorata tecnica di produzione e di allestimento dell'ortaggio raggiunta dai nostri orticultori.

I paesi più forti importatori sono stati in ordine di importanza: Germania (2974 vagoni), Svizzera (710), Olanda (217), Gran Bretagna (191); i prezzi medi raggiunti per quintale sono stati di L. 44-92 per l'endivia scarola, 100-140 per la lattuga Trocadero, 68-105 per le altre insalate a cappuccio.

questa zona si dipartono. I tessuti sottostanti alla muffa sono imbruniti, molli, disgregati dapprima nei soli strati



Fig. 3. — Micelio giovane di *Scl. minor* su substrato artificiale.

superficiali poi sempre più profondamente fino a che tutto lo spessore della corteccia e del cilindro centrale ne sono interessati. La muffa si fa allora più compatta

assumendo l'aspetto di uno straterello feltroso nel quale, più o meno ravvicinati, si vanno differenziando degli ammassi miceliali. Questi ammassi hanno il medesimo colore bianco delle ife, ma tosto si iscuriscono diventando poi completamente neri: si tratta degli sclerozi del parassita. Essi rimangono isolati oppure più di frequente confluiscono fra di loro disponendosi talvolta in forma di croste ampie da pochi millimetri a qualche centimetro, croste che ricoprono le superfici libere dell'ospite, in corrispondenza dei tessuti invasi dal micelio.

Dato il completo marciume dei tessuti del colletto il cespo di foglie si stacca con la massima facilità dalla parte radicale.

Dalle piante ammalate il micelio si irradia nel terreno circostante che ricopre di un leggero intreccio di ife, somigliante ad una ragnatela a fili sericei e rilucenti.

Microscopicamente i tessuti alterati appaiono invasi, infarciti dalle ife del fungo le quali in certi punti quasi nascondono gli elementi cellulari necrotizzati.

Descrizione del parassita.

Il micelio è costituito da ife ialine, ad andamento rettilineo od irregolarmente sinuoso, a calibro abbastanza uniforme con rari rigonfiamenti, ingrossature od altre irregolarità del genere; le ife più sottili misurano 2,5-6 μ, le più grosse 8-13 μ in diametro. Nelle ife giovani i setti sono poco visibili e il contenuto protoplasmatico è molto uniforme, granuloso, opaco, senza inclusioni di sorta o con qualche piccolo globulo sferico, rotondeggiante; in quelle vecchie i setti sono evidenti, il protoplasma è trasparente e può presentare, ma raramente, delle grosse vacuolature. La parte apicale delle ife in accrescimento è appuntita (v. fig. 3). Le ramificazioni del micelio avvengono di frequente ad angolo retto; abbastanza comuni sono le anastomosi ad H. Quando muoiono o cessano di funzionare le ife si raggrinzano e si trasformano in fili esilissimi.

Nelle culture artificiali il micelio produce degli agglomerati del tipo di quelli che si vedono in figg. 4 e 5; il loro sviluppo è più abbondante nei substrati poveri od alla periferia delle colonie, ove il nutrimento scarseg-

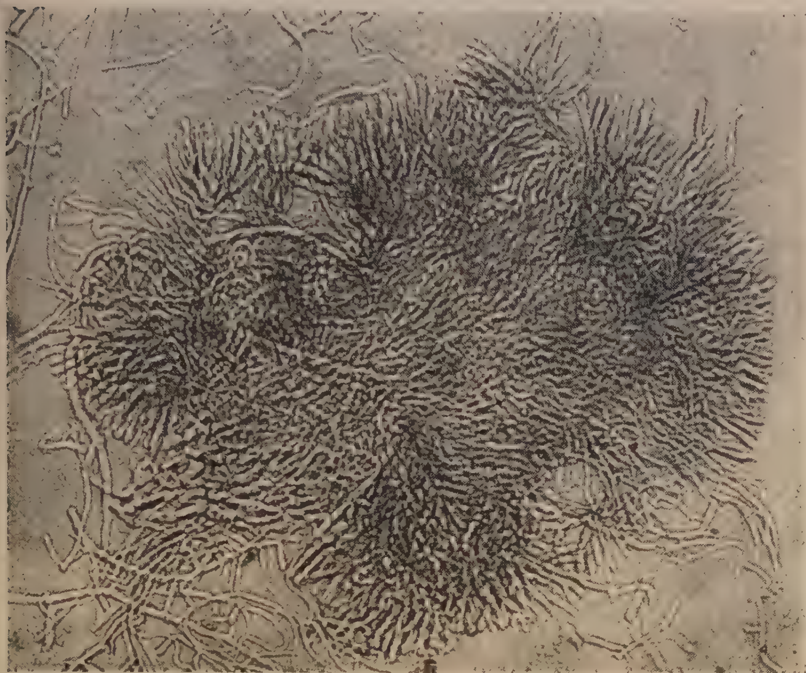


Fig. 4. — Agglomerati miceliali di *Scl. minor* formatisi a contatto del vetro delle scatole Petri contenenti le colonie su agar-carote.

gia; si possono formare anche al di fuori del substrato culturale, per esempio sul vetro delle capsule o dei tubi di cultura. Tali agglomerati hanno probabilmente il significato di « organi di aderenza » oppure di « centri di resistenza » alle cattive condizioni d'ambiente. In natura potrebbero tornare di utilità al parassita nella prima fase della infezione, quando il micelio deve perforare gli strati epidermici e penetrare nei tessuti interni degli ospiti.

Il micelio produce una fruttificazione microconidica: all'apice di ife indifferenziate e di elementi a forma di corte bottiglie a collo largo misuranti 8-13 × 2,8-4 μ, iso-



Fig. 5. — Terminazione delle ife alla periferia di un agglomerato come in fig. 4.

lati o riuniti a gruppi di 2-4 (v. fig. 6), nascono specie di conidi unicellulari, rotondeggianti, completamente ialini, dotati di una grossa vacuolatura centrale o più spesso eccentrica, grandi all'incirca 3-3,6 μ in diam. Ogni terminazione fertile produce diversi microconidi i quali, man mano che si differenziano, si dispongono a catenella o a glomerulo di 3-12 elementi all'estremità della terminazione stessa. Le catenelle sono in genere molto fragili e si rompono dopo che hanno riunito 2-3 conidi; talvolta sono più resistenti e possono giungere ad allineare persino 10 conidi.

La funzione di simile fruttificazione microconidica è assai incerta; sembra escluso che essa abbia importanza alcuna nel diffondere l'infezione mentre si è propensi

a credere che i microconidi si comportino come gli spermazî delle ruggini e che abbiano cioè una attività sessuale (1).

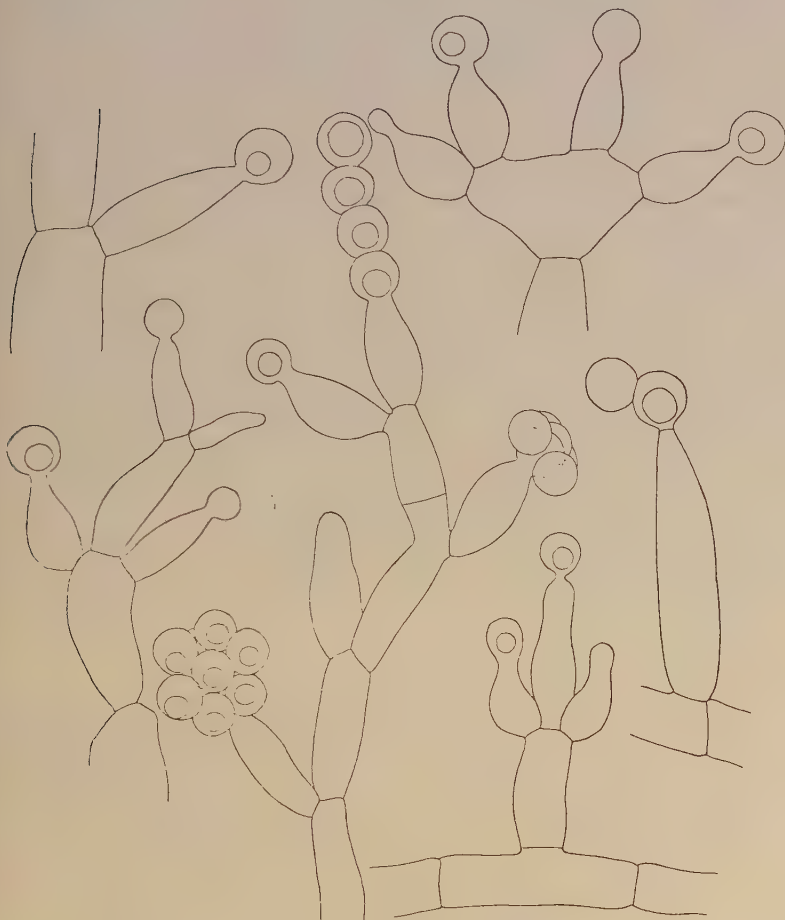


Fig. 6. — Fruttificazioni microconidiche di *Scl. minor* differenziatesi su agar-carote.

La struttura degli sclerozi di *Scl. minor* non possiede particolarità degne di rilievo essendo analoga a quella

(1) Drayton F. L., *The sexual function of the microconidia in certain Discomycetes*. « Mycologia », **24**, 1932, pp. 345-348.

degli sclerozi delle altre specie del genere: all'esterno si trova un intreccio di ife scure a grossa parete disposte in uno strato di aspetto pseudoparenchimatico che racchiude la massa centrale costituita di filamenti ialini, essi pure a grossa parete (2-2,5 μ), fittamente intrecciati e costituenti un tessuto ifenchimatico.

Gli sclerozi sono di un color nero intenso; la loro superficie è leggermente, ma distintamente granulosa. Tanto nei substrati artificiali che in quelli naturali gli sclerozi si differenziano alla superficie oppure soltanto un poco infossati. Quando crescono isolati hanno una forma più o meno rotondeggiante e misurano dai 660 ai 1050 μ (v. tabella IV). Invecchiando emettono una goccia di un liquido vischioso trasparente, inizialmente incoloro, poscia giallastro, che evapora con molta lentezza.

Gli apoteci non sono mai comparsi nel materiale da me studiato. Ho conservato per molti mesi gli sclerozi in sabbia pura e mista a terra, in diverse condizioni di umidità e di temperatura, senza ottenere altro che lo sviluppo di micelio il quale si diffondeva alla superficie del terreno. È noto tuttavia che gli apoteci sono costituiti da un disco a forma di coppa, ampio 0,5-2 mm. in diametro, e da uno stelo cilindrico, molle, flessuoso, attenuato in basso, lungo 5-12 mm.; gli aschi sono cilindrici o cilindrico-clavati, misurano 125-175 × 8-11 μ e contengono 8 spore elissoidali-ovali, ialine, grosse 5-8,8 × 8,3-13,9 μ; le parafisi sono filiformi o cilindrico-clavate, settate, raramente ramificate, lunghe quanto gli aschi, grosse 3-4 μ.

Comportamento culturale.

Culture pure di *Scl. minor* si ottengono con facilità partendo dal micelio, dagli sclerozi che si trovano nel terreno o sulle piante, come anche dai tessuti alterati dell'ospite.

Le colonie su agar-carote, sviluppatesi a temperatura ambiente di 20-22° C circa hanno le seguenti caratteristi-

che : per le prime 24 ore sono costituite di un sottile strato di micelio bianco superficiale che qua e là — specialmente nella parte centrale della colonia — si innalza in

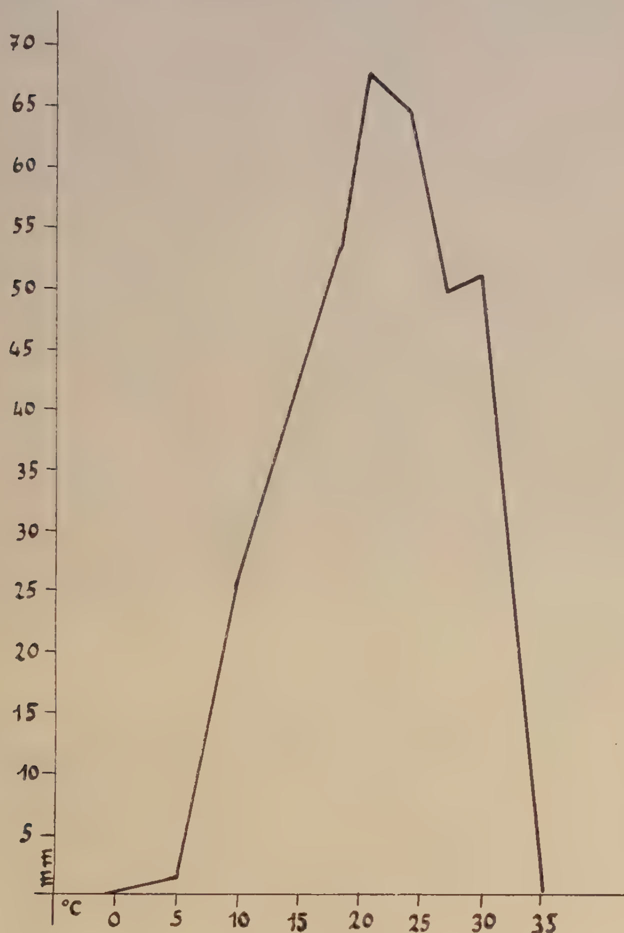


Fig. 7. — Grafico dell'accrescimento delle colonie di *Scl. minor* su agar-carote a diverse temperature.

soffici fiocchetti aerei candidi. Guardate a luce radente le colonie appaiono scintillanti ; contro luce sono trasparenti. Dopo 72 ore lo spessore del feltro miceliale è notevolmente erto tanto che contro luce la colonia appare quasi opaca. La superficie è tutta e fittamente coperta di

piccoli ammassi miceliali compatti bianchi che gli conferiscono un aspetto lanoso. Già dopo 96 ore si distinguono bene gli sclerozi che si vanno differenziando in corrispondenza degli ammassi miceliali ora nominati; gli sclerozi sono poi completamente formati ed hanno assunto il loro colore nero intenso normale dopo 120 ore. Essi sono dapprima ricoperti da qualche filamento di micelio aereo, poi divengono del tutto glabri ed opachi.

Dopo la comparsa degli sclerozi nelle colonie non avviene alcun mutamento tranne la scomparsa graduale, incominciando dal centro, del micelio aereo (v. Tav. XII, *A*).

Le colonie in pieno rigoglio vegetativo esalano un odore di pesce fresco, non sgradevole.



Sul modo di comportarsi del fungo in cultura artificiale esercitano una notevole influenza alcuni fattori, fra cui specialmente: 1) la temperatura, 2) e 3) la qualità e la quantità del substrato, 4) l'umidità, 5) l'età del micelio. Il loro vario influsso verrà passato in rassegna nelle righe che seguono.

I. - Influenza della temperatura.

L'*optimum* per l'accrescimento delle colonie si aggira sui 20-22° C, il *maximum* sui 35, il *minimum* sui 3-5° C (v. grafico). Al di sotto di 3 e al di sopra di 35° C il micelio pur cessando di crescere non perde tuttavia la sua vitalità; io ho conservato degli inoculi su agar-carote in capsule racchiuse nel ghiaccio per 36 ore ed ho ottenuto, dopochè le capsule erano riportate a temperatura conveniente, delle colonie perfettamente normali; del pari, inoculi su agar conservati per più ore a temperature superiori a 35° C dimostrarono di essere vitali quando tornavano a temperature più basse.

Le velocità di accrescimento delle colonie di *Scl. minor* su agar-carote alle varie temperature sono riportate nella tabella I (v. anche fig. 7).

TABELLA I.

Accrescimento delle colonie in agar-carote di *Scl. minor* a varie temperature (espresso in mm.)

Temp. in °C	ORE										Accrescimento medio giornaliero
	24	38	48	62	72	86	96	110	120	134	
-0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	1[1]	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,2
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0,2
10	1	2	4	6	8	13	17	22	25	29	4,2
15	5	9	13	22	27	35	42	53	63	70[2]	10,5
20-22	12	15	19	33	40	49	55	67	70[2]	+ 70	14
22-25	99	12	18	30	35	49	53	65	70	+ 70	12,2
25-27	14	15	22	30	35	43	53	65	70	+ 70	12.2
30	4	10	14	24	38	44	53	65	70	+ 70	12,2
35	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	0,2
37	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

La temperatura non influisce solamente sulla velocità di accrescimento delle colonie, ma anche sull'aspetto di queste e sulla forma e dimensione degli sclerozi.

Le principali caratteristiche differenziali delle colonie alle diverse temperature sono le seguenti (v. tav. XII, fig. *A*):

A 0° C. le colonie sono molto piccole e costituite di scarsi filamenti miceliali ialini irradiantesi dall'inoculo.

(1) I numeri esprimono la lunghezza del diametro raggiunto dalla colonia dopo 24, 38, 48, 62, 72, 86, 96, 110, 120, 134 ore. Il substrato è contenuto in capsule Petri di 70 mm. di diam. conservate in ambienti il cui grado di temperatura è rimasto costante per tutta la durata dell'esperienza oppure ha variato entro i limiti segnati nella tabella.

Ogni numero rappresenta la media di due o più misurazioni.

(2) Diametro della capsula Petri. Le colonie hanno invaso tutto il substrato.

A 5° C hanno abbondante micelio aereo su tutta la superficie della colonia; gli sclerozi non si formano.

A 10° C le colonie producono sclerozi neri, piuttosto piccoli, 865 μ in diametro, irregolari, emisferico-depressi, fitti, frequentemente confluenti, presenti soltanto alla periferia della colonia (v. tav. XII, fig. *A* 6). Micelio aereo ben sviluppato, a fitti fiocchi cotonosi, in modo particolare nel centro della colonia.

A 15° C gli sclerozi sono grigio-neri o neri, relativamente piccoli, 747 μ in diametro, emisferico-depressi, irregolari, fitti, di frequente confluenti, più abbondanti alla periferia della colonia, assenti al centro. Micelio aereo ben sviluppato con fiocchi cotonosi al centro della colonia (v. Tav. XII, fig. *A* 5).

A 20-22° C gli sclerozi sono neri o grigio-neri, mediamente grossi, 869 μ in diametro, emisferici o quasi sferici, irregolari, poco confluenti, fitti specialmente alla periferia della colonia, ma presenti anche nella parte centrale, dove si trovano frammisti ad abbondanti fiocchi di micelio aereo; ai bordi della colonia micelio aderente al substrato (v. tav. XII, fig. *A* 4).

A 22-25° C gli sclerozi sono neri piuttosto grossi, 722 μ di diametro, emisferico-sferici, irregolari anche nella parte centrale di questa. Micelio aereo abbondante al centro, mancante alla periferia della colonia (v. Tav. XII, fig. *A* 3).

A 25-27° C gli sclerozi sono neri, mediamente grossi, 707 μ in diametro, emisferico irregolari, fitti specialmente alla periferia della colonia, radi al centro, piuttosto confluenti e riuniti in masse scleroziali di 8-10 elementi. Micelio aereo relativamente scarso, poco rilevato sul substrato (v. Tav. XII, fig. *A* 2).

A 30° C gli sclerozi sono neri, relativamente grossi, 1056 μ in diametro, irregolari, non molto fitti e più radi al centro della colonia, poco confluenti. Micelio aereo poco sviluppato e appena rilevato sul substrato (v. Tav. XII, fig. *A* 1).

A 35° C gli sclerozi non si formano; il micelio aereo

è abbondante sotto forma di voluminosi ciuffi cotonosi bianchi.

Confrontando le dimensioni raggiunte dagli sclerozi si vede che a 30° C queste sono notevolmente più grandi



Fig. 8. — Influenza della temperatura sull'aspetto delle colonie di *Scl. minor* (su agar-carote). *A sinistra:* colonia sviluppatasi a 10° C. *A destra:* colonia della medesima età sviluppatasi a 30° C.

che non alle temperature inferiori. Ciò in parte corrisponde a quanto venne osservato per primo dal CHIVERS (1) e successivamente confermato da altri AA. (2):

(1) CHIVERS A. H., *A comparative study of* Sclerotinia minor *Jagger and* Sclerótinia intermedia *Ramsey in culture.* « Phytopath. », **19**, 1929, pp. 301-309.

(2) KEAY M. A., *A study of certain species of the genus* Sclerotinia. « Ann. Appl. Biol. », **26**, 1929, pp. 227-246.

che cioè nella *Scl. minor* — contrariamente a quello che avviene in altre specie del genere (1) — le dimensioni degli sclerozi diminuiscono proporzionalmente col decrescere della temperatura in cui essi si differenziano. Nel ceppo italiano il fenomeno non si verifica con molta regolarità, poichè a 30° C il diametro medio degli sclerozi è = a 1056 μ, a 25 C = 707 μ, a 20 C = 869 μ, a 15 C = 747 μ, a 10 C = 865 μ. Che però la regola del CHIVERS anche per il ceppo italiano sia valida almeno nei casi estremi si può stabilire con la seguente esperienza: Si inoculano due scatole di cultura e si mantengono a 10° C fino a che il micelio si è ben sviluppato, ma la differenziazione degli sclerozi non si è ancora iniziata; a questo momento una delle scatole è portata a 30° C. Quando, dopo qualche giorno, si confrontano le colonie è ben evidente la diversità fra gli sclerozi dell'una e dell'altra capsula, come appare dalla fig. 8. Tale esperienza dimostra inoltre che la maggiore o minore grandezza degli sclerozi dipende dalla temperatura in cui avviene la differenziazione della massa scleroziale e non da quella che agisce durante la crescita del micelio.

II. - INFLUENZA DELLA QUALITÀ DEL SUBSTRATO.

Il ceppo italiano della *Scl. minor* oltre che su agar-carote è stato allevato su: agar-malto, agar-fagioli, agar-avena, agar-Czapeck, agar-insalata (2), pezzi di patata, di girasole, di insalata, di carote.

Le caratteristiche più salienti su tali substrati sono:

A g a r - m a l t o. — Sclerozi grossi, 1030 μ in diametro, nero-grigiastri (3), irregolari, di solito schiacciati,

(1) RAMSEY G. B., Sclerotinia *species causing decay of vegetables under transit and marked conditions.* « Journ. Agr. Res. », **31**, 1925, pp. 597-632.

(2) Si fanno bollire per 3-4 ore a fuoco lento 250 gr. di foglie di insalata; si lascia raffreddare il decotto per 12 ore; si filtra per straccio, si neutralizza con qualche goccia di $CaCO_3$ al 10%, si aggiunge l'1% di NH_4NO_3 e l'1% di glucosio. Indi si agarizza e si sterilizza a 120 per 30'.

(3) Il color grigio è conferito dalle ife del micelio aereo che si sviluppano anche al di sopra degli sclerozi.

talvolta emisferico-rotondeggianti, fitti, isolati o riuniti in croste scleroziali costituite di pochi elementi. Micelio aereo molto sviluppato, con numerosi ciuffi cotonosi (v. Tav. XII, fig. *B*).

A g a r - a v e n a. — Sclerozi piccoli, 674 μ in diametro, neri, rotondeggianti o leggermente irregolari, radi, isolati o raramente riuniti in gruppi di 3-4 elementi. Micelio aereo completamente assente (v. Tav. XII, fig. *C*).

A g a r - C z a p e c k. — Sclerozi piuttosto grossi, 949 μ in diametro, nero-grigiastri, emisferico-rotondeggianti, frequentemente raggruppati. Micelio aereo assente o pochissimo sviluppato e in tal caso molto aderente al substrato (v. Tav. XII, fig. F).

A g a r - i n s a l a t a. — Sclerozi di media grossezza, 830 μ in diametro, neri, emisferico-sferici, radi, isolati o raramente riuniti in gruppi di 2-3. Micelio aereo abbondantemente sviluppato anche alla periferia della colonia, piuttosto aderente al substrato, con minutissimi e fitti ciuffi aerei (v. Tav. XII, fig. *D*).

P e z z i d i i n s a l a t a (fittone radicale). — La superficie del tassello è ricoperta in gran parte da una crosta scleroziale nera, tutta mamellonata. Micelio aereo ben sviluppato. I tessuti del vegetale sono disgregati e trasformati in breve tempo (2-3 giorni) in un liquido leggermente torbido, di color giallo chiaro, entro cui si vedono i residui dei fasci vascolari (v. fig. 9).

P e z z i d i g i r a s o l e (fusto). — La superficie del tassello è parzialmente ricoperta da croste scleroziali e in parte da ammassi cotonosi di micelio bianco. Il substrato è trasformato con maggior lentezza del substrato precedente (v. fig. 9) in un liquido trasparente di color paglierino.

P e z z i d i c a r o t e (radici). — Tassello tutto ricoperto di una crosta mamellonata grigio-nera. Micelio aereo bianco abbastanza sviluppato. La disorganizzazione dei tessuti avviene in piccola proporzione (v. fig. 9); il liquido che ne risulta è color giallo-paglierino.

P e z z i d i p a t a t a (tubero). — Tutta la super-

ficie del tassello è ricoperta dalla massa scleroziale nera a grossi mamelloni. Micelio aereo scarso o mancante. Il substrato non subisce la trasformazione acquosa (v. fig. 9).

La velocità di accrescimento delle colonie nei substrati agarizzati sopraricordati, a 22° C., è riportata nella tabella II.

TABELLA II.

Accrescimento delle colonie di *Scl. minor* a 22° C su alcuni substrati agarizzati (espresso in mm.)

Substrato	ORE									
	24	38	48	62	72	86	96	110	120	134
Agar-malto . . .	2	13	19	25	37	52	60	67	70	+ 70
Agar-avena . . .	4	13	16	20	26	34	40	45	53	62
Agar-Czapeck .	1	1	2	3	3	5	7	10	12	13
Agar-insalata. .	1	3	8	21	27	42	53	61	69	70

***

Singolare e di notevole interesse appare il modo di comportarsi del fungo nei tasselli vegetali: la capacità che ha il micelio di trasformare rapidamente i tessuti in una massa acquosa (1) spiega innanzitutto il perchè nelle piante ammalate si verifichi un così repentino disgregamento nella zona del colletto e dà ragione di quei casi di marciume — che si manifestano talvolta in natura — nei quali la parte aerea delle piante dopo avere dimostrato i sintomi già descritti a pag. 300, va soggetta

(1) Lo stesso modo di comportarsi sui pezzi di vegetali freschi è stata osservata da RAMSEY 1925 (l. c.): «.... freshly cut slices of turnip, carrot, and lettuce leaves held over «shooting» aphotecia will become so severely infected that the whole surface of the host will be covered with white, cottony mycelium, and the tissues reduced to a wattery mass within three to five days».



Fig. 9. — Diversa capacità disgregatrice della *Scl. minor* per i tessuti di patata, carota, girasole ed insalata, sterilizzati. I tasselli di quest' ultime due piante sono trasformati rapidamente in una massa acquosa di colore giallastro; quello di carote subisce invece molto lentamente questa trasformazione e quello di patate non la subisce affatto.

appunto in parte o del tutto, ad un disfacimento acquoso; ciò evidentemente avviene quando l'infezione, più di frequente limitata all'apparato radicale, riesce a superare la zona del colletto ed a insinuarsi nel picciolo e nel lembo delle foglie.

Il fatto inoltre che, almeno nei casi da me sperimentati (v. fig. 9), il micelio agisca più energicamente, in questa sua attività di disfacimento acquoso, sui tasselli di piante che come l'insalata e il girasole sono maggiormente attaccati dalla *Sclerotinia* in natura fa ritenere che l'inoculazione dei tasselli possa venire utilizzata come un mezzo per la rapida individuazione degli ospiti del parassita e del loro grado di recettività. Se questo metodo poi risultasse, in seguito ad opportune esperienze, dotato di una sufficiente sensibilità, potrebbe essere di grande ausilio nella ricerca di ceppi resistenti di insalata o di altre piante orticole che sono maggiormente danneggiate dal tipo di marciume che stiamo trattando.

III. - Influenza della quantità del substrato.

L'influenza che può esercitare la quantità del substrato messa a disposizione del fungo sul comportamento culturale di questo è chiaramente dimostrato dalla fig. 10 che riproduce gli estremi di una serie di colonie provenienti dal medesimo ceppo, allestite contemporaneamente ed assoggettate ad identiche condizioni d'ambiente, cresciute su strati variabili — da 2 a 8 mm. — di agar-carote. Con l'aumentare dello spessore del substrato gli sclerozi si differenziano in maggior quantità e divengono più irregolari, più ravvicinati, spesso confluenti e meno sporgenti dall'agar (v. fig. 10). L'accrescimento delle colonie è però più rapido negli strati più sottili : dopo 3 giorni ad esempio il diametro della zona raggiunta dal micelio su spessori di agar di 2, 4, 5, 7, 8 mm. era rispettivamente di 80, 69, 62, 60 millimetri.

IV. - Influenza dell'umidità.

L'umidità elevata è favorevole al differenziamento degli sclerozi. Se si alleva una colonia nell'interno di un



Fig. 10. — Influenza dello spessore del substrato sull'aspetto delle colonie di *Scl. minor* (a 25° C.). *A sinistra:* Colonia sviluppatasi su uno strato di agar-carote di 2 mm. *A destra:* Colonia della medesima età sviluppatasi su uno strato di agar-carote di 8 mm.

cristallizzatore contenente del carburo di calcio il numero e le dimensioni di essi sono assai inferiori a quelle degli sclerozi che compaiono in una colonia che cresce alla medesima temperatura, sul medesimo substrato, ma al di fuori del cristallizzatore.

V. - Influenza dell'età del fungo.

La rapidità di sviluppo della *Scl. minor* in cultura artificiale e conseguentemente la velocità ed il modo di differenziarsi della massa sleroziale dipende in notevole misura dall'età del micelio da cui si origina la colonia.

Questo fenomeno è numericamente espresso dalla tabella III nella quale sono riportate — a sinistra — le dimensioni raggiunte dopo 2 e 5 giorni dalle colonie derivate dal trapianto di culture vecchie provviste di sclerozi, in confronto alle dimensioni delle colonie derivate da culture giovani, in via di accrescimento, senza sclerozi.

Tabella III.

Accrescimento delle colonie di *Scl. minor* ottenute dal trapianto di culture di diversa età, coltivate su agar-carote a 25° C

(espresso in mm.)

Colonie	Inoculo da culture con sclerozi		Inoculo da culture senza sclerozi	
	Dopo 2 giorni	Dopo 3 giorni	Dopo 2 giorni	Dopo 3 giorni
1	8	30	40	50
2	22	50	35	70
3	10	32	43	74
4	25	55	45	78
5	11	35	55	70
6	14	40	45	65
7	17	40	40	65
8	10	30	52	70

Ho insistito nella descrizione dei caratteri culturali del ceppo italiano di *Scl. minor* per dimostrare e documentare a quale notevole variabilità esso vada soggetto. Variabilità che potrebbe talvolta far ritenere di trovarsi di fronte se non a specie per lo meno a razze differenti,

specialmente se si prende in considerazione l'elemento quantità e dimensione degli sclerozi (v. tab. IV).

TABELLA IV.

Dimensione media di 200 sclerozi differenziatisi su diversi substrati (a 22° C.) ed a diverse temperature

Substrati	Dim. in μ	Temperature	Dim. in μ
Agar-carote. . .	869	10	865
Agar-malto . . .	1030	15	747
Agar-avena. . .	674	20-22	869
Agar-Czapeck .	949	22-25	722
Agar-insalata. .	830	25-27	707
		30	1056

Le mie osservazioni collimano con quelle di CHIVERS, il quale si è occupato (l. c.) specificatamente della variabilità della *Scl. minor* riferendosi però non soltanto ad uno, ma a più ceppi isolati da diversi ospiti e provenienti da diverse parti del mondo, che esistevano nella raccolta del Prof. Whetzel di New York. Dalle esperienze del CHIVERS è evidente che ogni isolamento può presentare delle diversità nelle dimensioni degli sclerozi (cfr. tab. I del CHIVERS) ed in altri caratteri morfologici-culturali non certo inferiori a quelle che si riscontrano nel fungo italiano. Ciò dimostra come sia necessario, prima di pronunciarsi sulla identificazione di un ceppo di *Scl. minor,* che questo sia controllato e studiato in condizioni di ambiente diverse, in modo particolare per quanto si riferisce alla temperatura.

Identificazione della razza a cui appartiene il ceppo italiano.

Le ricerche del CHIVERS or ora ricordate hanno permesso di stabilire l'esistenza di tre razze di *Sclerotinia minor,* dotate delle seguenti caratteristiche:

RAZZA I. — A 25° C. gli sclerozi sono relativamente grossi, neri, ovali o sferici, con leggera tendenza a con-

fluire, 250-2000 (in media 1250) μ in diametro. Il micelio aereo è depresso, pulverulento, bianco e il substrato nudo specialmente verso il margine della colonia.

A 18° C. gli sclerozi sono più piccoli, neri, con tendenza a confluire, 250-1500 (in media 800) μ in diametro. Il micelio aereo è simile a quello a 25° C.

Razza II. — A 25° C. gli sclerozi si riuniscono in grossi ammassi; questi ammassi sono relativamente pochi, neri, di forma irregolare, 1000-5000 (in media 2440) μ in diametro. Il micelio aereo è abbondante, depresso, pulverulento o feltroso, bianco, ricoprente l'intera superficie del substrato.

A 18° C. gli sclerozi non sono agglomerati; sono piccoli, neri, ovali o sferici, con tendenza a fondersi, 750-3000 (in media 1540) μ in diametro. Il micelio aereo è scarso, bianco, il substrato nudo fra i fiocchi sparsi nella cultura.

Razza III. — A 25° C. gli sclerozi sono relativamente grossi, neri, ovali o sferici, con tendenza a fondersi, 1000-3500 (in media 1580) μ in diametro. Micelio aereo scarso, bianco e polveroso verso il centro, scomparente ai margini della cultura, in certi casi così scarso da fare apparire il substrato nudo nella zona di crescita del micelio.

A 18° C. gli sclerozi sono piccoli, neri, ovali o sferici, con tendenza a fondersi, 250-2000 (in media 1060) μ in diametro. Quando gli sclerozi sono maturi il micelio aereo appare solo come piccoli fiocchi sparsi sul substrato.

Il ceppo italiano, specialmente in considerazione della relativa piccolezza dei suoi sclerozi, può ritenersi appartenente alla Razza I (1).

---

(1) Pressochè identico al mio è il ceppo isolato da piante di girasole in Inghilterra e che la Dott.ssa Keay mi ha gentilmente mandato in esame. Notevolmente diverso — per le maggiori dimensioni degli sclerozi e per l'abbondante produzione di micelio aereo — è invece il ceppo pervenutomi dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn.

Inoculazioni artificiali.

Con le inoculazioni artificiali ci si convince immediatamente delle capacità parassitarie della *Scl. minor*: la malattia si riproduce con una rapidità, con una violenza e con una costanza sorprendente.

Io ho inoculato piante di insalata romana, insalata cappuccio, cicoria coltivata, cicoria da campo e girasole. In tutti i casi l'inoculo proveniva da culture giovani, di circa una settimana, in agar-carote ed esso veniva deposto a contatto dei tessuti dell'ospite integri o previamente lesionati con un ferro sterile. Il punto di inoculazione era ricoperto poi da un batuffolo di cotone imbevuto di acqua sterile. Le esperienze sono state compiute verso la metà del mese di luglio; i soggetti inoculati venivano conservati in un ambiente nel quale la temperatura era di circa 20-22° C.

Inoculazioni su insalata romana. — Nelle piante inoculate mediante ferita nel fusto all'altezza del colletto già dopo 48 ore si afflosciano le foglie inserite in vicinanza del punto di inoculo. I tessuti del fusto nella zona del colletto presentano un marciume diffuso che risale per 2-3 cm. lungo il picciolo e la nervatura centrale delle foglie appassite. Dopo 72 ore tutta la pianta è afflosciata sul suolo; il marciume si è diffuso per alcuni centimetri nella parte aerea del fusto ed ha raggiunto la metà della nervatura principale delle foglie esterne. La zona del colletto e la base delle foglie ivi inserite sono ricoperte da un leggero feltro di micelio bianco che si diffonde anche nel terreno circostante la pianta. Dopo 96 ore in corrispondenza di questo micelio si incominciano a differenziare gli sclerozi, mentre il marciume progredisce nei tessuti della parte aerea della pianta di già appassiti.

Se la ferita è praticata verso la metà della parte aerea del fusto muoiono prima le foglie del centro della pianta

poi quelle esterne, ma la morte del soggetto avviene con pressapoco eguale rapidità (v. fig. 11).

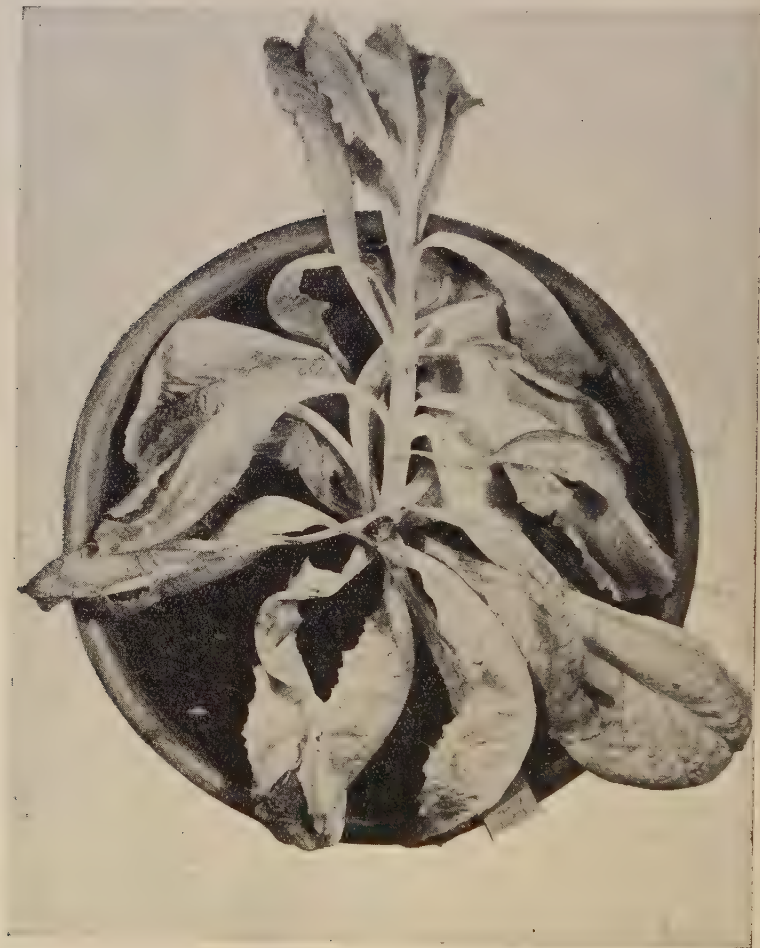


Fig. 11. — Pianta di insalata romana inoculata nel fusto a 3 centimetri di altezza dal suolo. Il marciume che si è prodotto nel punto di inoculo ha causato in 2 giorni l'afflosciamento dalla parte superiore della pianta.

Nelle inoculazioni fatte deponendo un pezzetto di cultura all'ascella delle foglie si osserva dopo 48 ore l'ap-

passimento della foglia che nasce nel punto di inoculazione ed un marciume diffuso per più di un centimetro



Fig. 12. — Pianta di insalata romana inoculata deponendo un pezzetto di cultura del fungo su agar-carote all'ascella di una foglia situata circa verso la metà dello stelo. L'infezione ha causato un rapidissimo appassimento della foglia vicina al punto di inoculo (48 ore) e l'afflosciamento della parte superiore della pianta (72 ore).

nel fusto e nel picciolo della foglia appassita (v. fig. 12). A partire da questo momento la malattia si diffonde

con la stessa velocità e le stesse caratteristiche che ha nei soggetti inoculati per ferita (1).

Inoculazioni su insalata cappuccia. — Non esistono diversità notevoli dalle inoculazioni su lattuga romana. Qui però il marciume del colletto e del fusto si diffonde con più rapidità, mentre è più lento nel picciolo delle foglie (v. fig. 2).

Nelle inoculazioni senza ferita, mettendo un pezzo di cultura sulle foglie più giovani, si ha un rapido marciume del cuore della pianta, mentre le foglie esterne ed il soggetto intero rimangono in vita per lungo tempo (v. Tav. XI).

Inoculazioni su cicoria coltivata e selvatica. — Dopo 48 ore dalla inoculazione mediante ferita alla base del fusto sono afflosciate le foglie esterne vicine al punto d'inoculo. Nel fusto e nel picciolo delle foglie è manifesto il marciume. Dopo 72 ore la pianta è tutta afflosciata (v. Tav. XI); il marciume è esteso lungo il fusto e per il primo terzo delle foglie.

Inoculazioni su girasole. — Una pianta alta 1 metro è stata inoculata mediante ferita nel fusto a pochi centimetri dal suolo. Dopo 48 ore attorno all'inoculo si distingue una piccola zona di tessuto imbrunito e marcito; dopo 72 ore il marciume si è esteso tutt'attorno al fusto per un'altezza di 2-3 cm. e si ricopre di uno strato di micelio bianco, mentre le foglie della pianta incominciano ad afflosciarsi. Dopo 120 ore il soggetto è completamente appassito (v. fig. 13); nella zona del colletto il marciume si è esteso per un'altezza di 6-7 cm. Col tempo alla superficie dei tessuti marciti si differenziano gli sclerozi (v. fig. 14).

---

(1) La malattia si è anche riprodotta mettendo dei pezzi di cultura sul terreno del vaso ove crescevano le piante; da questi pezzi si è originato del micelio che si è diffuso alla superficie della terra fino a che è giunto a contatto dell'ospite che ha aggredito.



Fig. 13. — Pianta di girasole uccisa in 5 giorni dalla infezione di *Scl. minor* inoculata alla base ed a 4/5 del fusto della pianta.

Nelle inoculazioni eseguite, sempre mediante ferita, a 90 cm. dal suolo (circa 12 cm. dall'apice della pianta), intorno all'inoculo appare già dopo 48 ore un ampio alone di tessuto imbrunito in via di marcescenza; dopo 72 ore il marciume si è esteso per una zona lunga 5 cm. e larga un centimetro e mezzo situato dal lato della ferita; la cima della pianta rimane verde fino a che il marciume non invade, in seguito, tutto lo spessore del fusto.

L'infezione attecchisce anche se l'inoculazione è fatta senza ferita: dopo 48 ore si ha il marciume di 4 cm. di picciolo della foglia alla cui ascella è stato deposto un pezzetto di cultura ed il lembo contemporaneamente è tutto appassito. Se un pezzetto di cultura si depone sul lembo fogliare integro, dopo 48 ore si osserva una macchia bruna ampia 2 cm. che si estende rapidamente raggiungendo in 72 ore l'ampiezza di 4-5 cm. e potendo in seguito invadere tutta la foglia.



Queste esperienze dimostrano innanzitutto che il ceppo italiano è dotato di una particolare virulenza data la rapidità con cui conduce a morte le piante infettate mediante l'inoculazione artificiale. Esse inoltre confermano che (1):

1.°) il micelio può penetrare nelle piante attraverso l'epidermide intatta;

2.°) la malattia ha un decorso più rapido se l'infezione è penetràta attraverso una ferita;

3.°) il terreno infetto può trasmettere la malattia alle piante che crescono su di esso;

4.°) l'infezione passa dalle piante ammalate al terreno che lo ospita sul quale il micelio può vivere e svilupparsi saprofiticamente;

5.°) il quadro patologico normale della malattia (cfr. p. 300) si verifica quando l'infezione primaria ha luogo in corrispondenza della zona del colletto;

(1) Cfr. spec. Keay, Labrousse, Flachs (ll. cc.).



Fig. 14. — Sclerozi di *Scl. minor* differenziatisi alla base di una pianta di girasole ammalatasi in seguito ad inoculazione artificiale.

6.°) tutte le parti della pianta possono venire aggredite dal micelio della *Sclerotinia;*

7.°) nei resti della vegetazione di piante uccise dalla malattia si differenziano gli sclerozi i quali, mescolandosi al terreno, lo rendono per molto tempo infetto.

Ospiti della " Sclerotinia minor ,,.

Come altre specie del genere, la *Scl. minor* è un parassita polifago: molte piante di diverso tipo e di diversa posizione sistematica sono state trovate attaccate spontaneamente, mentre di altre numerose è stata dimostrata la recettività per mezzo dell'inoculazione artificiale.

Gli ospiti finora conosciuti della *Scl. minor* sono raccolti ed ordinati alfabeticamente nel seguente elenco. La sigla N contrassegna quelli di cui si conosce la recettività naturale e la sigla A quelli la cui suscettibilità venne stabilita per via artificiale.

A *Apium graveolens*
N *Asparagus officinalis*
N *Astragalus sinensis*
N *Beta vulgaris*
A *Brassica campestris*
N *Cichorium intybus*
N *Citrus medica* (frutti)
N *Chrysanthemum cinerarifolium*
A *Cucumis citrullus* (frutti)
N *Daucus carota*
A *Dianthus delthoides*
N *Erigeron acris*
A *Faseolus vulgaris* (semi)
A *Gypsophila elegans*
N *Helianthus annuus*
N *Helianthus tuberosus*
A *Ipomoea batatas*
N *Lactuca sativa*
A *Lycnis alba*
N *Matthiola incana*
A *Pastinaca sativa*
A *Pisum sativum*
N *Raphanus raphanistrum*
A *Solanum lycopersicum* (frutti)
A *Solanum tuberosum*
A *Spergula arvensis*
A *Trifolium pratense*
A *Vicia faba*

Le piante inscritte in questo elenco, specialmente se contrassegnate con l'N, non dovrebbero venire coltivate per almeno 2 anni negli appezzamenti di terreno e nelle serre ove si è manifestata l'infezione di *Scl. minor*, a meno che il suolo non sia stato previamente disinfettato come verrà detto in seguito.

In Italia la *Scl. minor* oltre che sull'insalata cappuccio e la cicoria a Castel Gandolfo è stata riscontrata anche su frutti di limone a Lentini in Sicilia (1).

Mezzi di lotta.

Sui metodi di lotta contro la *Scl. minor* hanno fatto numerose, esaurienti ed oramai conclusive ricerche LABROUSSE, NOLL e SCHANDER, ROSELLA, WEBER e FOSTER, e specialmente FLACHS e WASEWITZ (ll. cc.).

Risulta da tali ricerche che il marciume da *Scl. minor* è una malattia difficilmente debellabile a causa: – 1) della molto lunga vitalità (2) degli sclerozi che si formano sui resti della vegetazione delle piante parassitizzate i quali rimangono incorporati nel terreno, resistentissimi agli effetti dannosi di fattori fisici e chimici di ogni sorta; – 2) della notevole polifagia del fungo che gli permette di rinnovare spesso la riserva di sclerozi vitali in un terreno ove l'infezione si è insediata.

Comunque sia il marciume in parola può essere se non eliminato per lo meno contenuto in proporzioni non eccessivamente dannose ricorrendo ad un complesso di pratiche ed accorgimenti culturali od altrimenti attuando la disinfezione del terreno mediante l'impiego di alcune sostanze antisettiche e del calore.

Le prime possono essere così compendiate:

1.°) allontanare immediatamente dal terreno le piante che presentino i primi sintomi della malattia. Asportare anche l'apparato radicale in cui l'infezione può

---

(1) SAVASTANO G., *Ricerche sperimentali sul marcio del frutto degli agrumi.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », XII, n. s., 1932, pp. 324-325.

(2) KEAY (l. c.) ha osservato che la vitalità degli sclerozi del ceppo isolato da *Helianthus tuberosus* non dura più di un anno; FLACHS stabilisce (l. c.) in 18-20 mesi la vitalità di sclerozi conservati in ambiente asciutto; NISIKADO e HIRATA (*Studies on the longevity of sclerotia of certain fungi, under controlled environmental factors.* « Berichte d. Ohara Inst. f. landw. Forsch. », 7, 1937, pp. 535-547) hanno conservato in vita per più di 2 anni, sempre in ambiente asciutto, gli sclerozi coltivati su paglia di riso.

diffondersi e sui quali si possono differenziare gli scle rozi;

2.°) evitare l'eccesso di umidità attorno alle piante. A tale scopo si deve piantare non troppo fitto; nelle serre procurare che esista una buona aereazione; nelle coltivazioni in campo disporre le piante su arginelli in modo che le foglie inferiori sotto l'azione dell'acqua piovana e di irrigazione non aderiscano molto fortemente al suolo impedendo così il ricambio d'aria attorno al colletto delle piante stesse;

3.°) evitare eccesso di umidità nel terreno; scartare perciò appezzamenti in cui l'acqua ristagna e non piantare troppo profondo;

4.°) non ripiantare per alcuni anni nello stesso terreno in cui è comparsa la malattia (a meno che non sia stato disinfettato) l'insalata, la cicoria e le altre piante orticole più facilmente attaccate dalla *Scl. minor;*

5.°) non eccedere con le concimazioni azotate che rendono le piante più recettive all'infezione;

6.°) distruggere i resti della vegetazione delle piante estirpate, perchè ammalate, non gettandole nella concimaia nella quale gli sclerozi potrebbero sopravvivere, ma bruciandoli o sotterrandoli profondamente in un terreno non adibito a coltivazioni orticole.



Per la disinfezione del terreno con metodi chimici sono state sperimentate — specialmente dagli AA. tedeschi — molte sostanze, gran parte delle quali non si trovano in commercio in Italia. Fra quelle che gli orticultori italiani possono avere facilmente a disposizione hanno dato i migliori risultati:

La FORMALINA che secondo FLACHS va utilizzata a concentrazione dell'1,5-2% e, secondo WASEWITZ, del 2-3% (5-7,5 l. di formalina del commercio in 100 l. d'acqua) da distribuirsi nella proporzione di 10-12 l. per mq.

L'ACIDO ACETICO che si utilizza nella medesima proporzione della formalina (Flachs).

L' Uspulun da adoperarsi allo stato pulverulento (120 gr. per mq. secondo Flachs, 40 gr. per mq. secondo Wasewitz) o in soluzione acquosa (all' 1-2 % secondo Flachs, allo 0,250-0,500% secondo Wasewitz).

Il Germisan che si utilizza con le medesime modalità dell'*Uspulun*.

L'uccisione degli sclerozi mediante la disinfezione del terreno col calore è basata sul principio di fare giungere a contatto del suolo infetto — lasciato in sito o raccolto in appositi recipienti — un getto di vapore acqueo sotto pressione che agisce fino a che il terreno stesso non ha raggiunto una temperatura letale per la vitalità degli organi vegetativi e di conservazione del parassita (90-100° C.). Questo metodo — che oltre a combattere la *Sclerotinia* serve a liberare il suolo da molti altri organismi animali e vegetali dannosi alla vegetazione delle piante orticole e che per soprappiù implica una spesa (a prescindere dal costo della caldaia per la produzione del vapore) assai inferiore a quella di qualsiasi metodo basato sull'impiego di sostanze chimiche — è diffusamente descritto da Wasewitz (l. c.).

⁂

Poichè il metodo della imbibizione del terreno con soluzioni di formalina è quello che per molteplici ragioni troverà il più comune impiego in pratica, ho eseguito una serie di esperienze per controllare il grado di resistenza a questo antisettico del ceppo italiano di *Scl. minor*.

A tal fine vennero sotterrati a 5, 10, 15 cm. di profondità in un terreno di medio impasto, umido, racchiuso in cassette di legno della capacità di 25 $cm.^3$, dei sacchetti di garza contenenti ciascuno porzioni di colonie di *Scl. minor,* su agar-carote, a sclerozi ben differenziati. Sul terreno di una prima serie di cassette così preparate vennero versate quantità equivalenti a 10, 20, 30 l. per $m.^2$ di una soluzione di formalina alla concentrazione di 1,2%, mentre il terreno della seconda serie fu imbe-

vuto con l'equivalente di 10, 20, 30 l. di una soluzione di formalina al 2%. Appena eseguito il trattamento le cassette vennero ricoperte da una lastra di *Eternit* per evitare la rapida evaporazione della formaldeide.

Dopo una settimana i sacchetti furono estratti dal terreno e gli sclerozi — puliti, lavati ripetutamente e ripetutamente in acqua sterile — furono riseminati su agar-carote dopo che avevano subito uno sminuzzamento allo scopo di mettere al contatto col substrato nutritivo le ife dell'interno dello sclerozio che son quelle che, protette dallo strato di tessuto corticale dello sclerozio stesso, possono più a lungo sopravvivere.

I risultati ottenuti (v. tabella V) sono:

Soluzione all'1,2% (3 l. di formalina del commercio per 100 l. d'acqua). — *Con 10 l.* per m.² non risentono alcun effetto gli sclerozi a 15 cm., sono uccisi una buona percentuale di quelli a 10 cm. e gran parte di quelli a 5 cm. dalla superficie. — *Con 20 litri* si uccidono gran parte degli sclerozi a 15 cm. e tutti quelli interrati a 10 e 5 cm. — *Con 30 l.* si uccidono tutti gli sclerozi esistenti nel terreno.

Tabella V.

Azione della formaldeide all'1,2 % e al 2 % sugli sclerozi di *Sclerotinia minor* incorporati nel terreno a diverse profondità

Profondità cm.	Formalina 1,2 %			Formalina 2 %		
	10 l.	20 l.	30 l.	10 l.	20 l.	30 l.
5	+	—	—	—	—	—
10	++	—	—	++	—	—
15	+++	+	—	+++	—	—

Soluzione al 2% (5 l. di formalina del commercio per 100 l. di acqua). — *Con 10 l.* per m.² non risentono pressocchè alcun effetto gli sclerozi a 15 cm., sono parzialmente danneggiati quelli a 10 e sono uccisi tutti quelli interrati a 5 cm. dalla superficie. — *Con 20 e 30 l.* si uccidono tutti gli sclerozi esistenti nel terreno.

Si deve perciò concludere: 1.°) che il ceppo italiano di *Sclerotinia minor* è dotato di un grado di resistenza agli effetti della formalina pressappoco analogo a quello che il FLACHS e il WASEWITZ hanno riscontrato nei ceppi tedeschi; 2.°) che somministrando tale antisettico secondo le prescrizioni dettate (v. pag. 330) dagli AA. ora nominati è possibile liberare in maniera praticamente sufficiente il terreno dagli sclerozi e quindi anche dall'infezione di questo parassita.

GABRIELE GOIDÀNICH.

RIASSUNTO.

In un caso di grave deperimento per marciume dell'insalata e della cicoria verificatosi nella primavera del 1939 a Castel Gandolfo (Roma) è stata riscontrata la *Sclerotinia minor* Jagg., a cui va attribuita la responsabilità del deperimento stesso.

Secondo l'A. questo parassita deve essere abbastanza diffuso in Italia. La sua esistenza sugli ospiti è facilmente mascherata da altri microrganismi, funghi o batteri, a carattere saprofitario.

La malattia si manifesta specialmente quando i cespi di insalata sono prossimi a raggiungere la maturità commerciale. I primi sintomi di ingiallimento e di appassimento compaiono nelle foglie esterne; quelle più interne deperiscono in un secondo tempo. L'infezione si inizia di norma nella zona del colletto ove i tessuti vanno soggetti ad un rapido marciume. I tessuti marciti si rivestono di una muffa bianca su cui si differenziano gli sclerozi del fungo.

Nel ceppo italiano di *Scl. minor* non son mai stati osservati, nè in natura nè in cultura artificiale, gli apoteci. Compare invece abbastanza comunemente la fruttificazione microconidica.

Il fungo si alleva con facilità su diversi substrati culturali. L'*optimum* di temperatura per il suo accrescimento è sui 20-22° C., il *maximum* sui 35°, il *minimum* sui 3-5° C. Temperatura, umidità, quantità e qualità del

substrato influiscono oltre che sull'accrescimento anche sull'aspetto delle colonie: specialmente il numero e le dimensioni degli sclerozi variano in notevole misura.

Il fungo disgrega i tessuti delle piante recettive trasformandoli in una massa acquosa.

Date le caratteristiche morfologiche ed il comportamento culturale il ceppo italiano di *Scl. minor* si può ritenere appartenente alla Razza I di Chivers.

Il ceppo è stato inoculato con successo su piante di insalata romana, insalata cappuccia, cicoria coltivata e selvatica e su girasole. L'infezione penetra bene attraverso le ferite, ma anche attraverso i tessuti illesi ed in pochi giorni conduce a morte le piante.

I mezzi di lotta contro il marciume da *Scl. minor* si basano su un complesso di pratiche e di accorgimenti culturali o sulla sterilizzazione mediante sostanze chimiche o il calore. Fra le sostanze chimiche han dato buon esito l'Uspulun, l'acido acetico, la formalina; l'efficacia di quest'ultima sugli sclerozi della *Scl. minor* è stata controllata da esperienze dell'A.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tav. XI.

In alto: pianta di insalata a cappuccio marcita nella parte centrale sotto l'azione della *Scl. minor* inoculata deponendo un pezzetto di cultura, su agar-carote, nell'interno del « cuore » della pianta.

In basso: pianta di cicoria con le foglie afflosciate sul suolo, due giorni dopo l'inoculazione artificiale, in conseguenza del marciume sviluppatosi nella zona del colletto.

Tav. XII.

Fig. A. — Aspetto delle colonie di *Scl. minor* sviluppatesi su agar-carote a diverse temperature. **1** a temp.=30° C; **2** a temp.=25-27° C; **3** a temp.=22-25° C; **4** a temp.=20-22° C; **5** a temp.=15° C; **6** a temp.=10° C.

Fig. B. — Particolare di una colonia di *Scl. minor*, sviluppatasi a 22° C. su agar malto.

Fig. C. — Come in fig. B, su agar-avena.

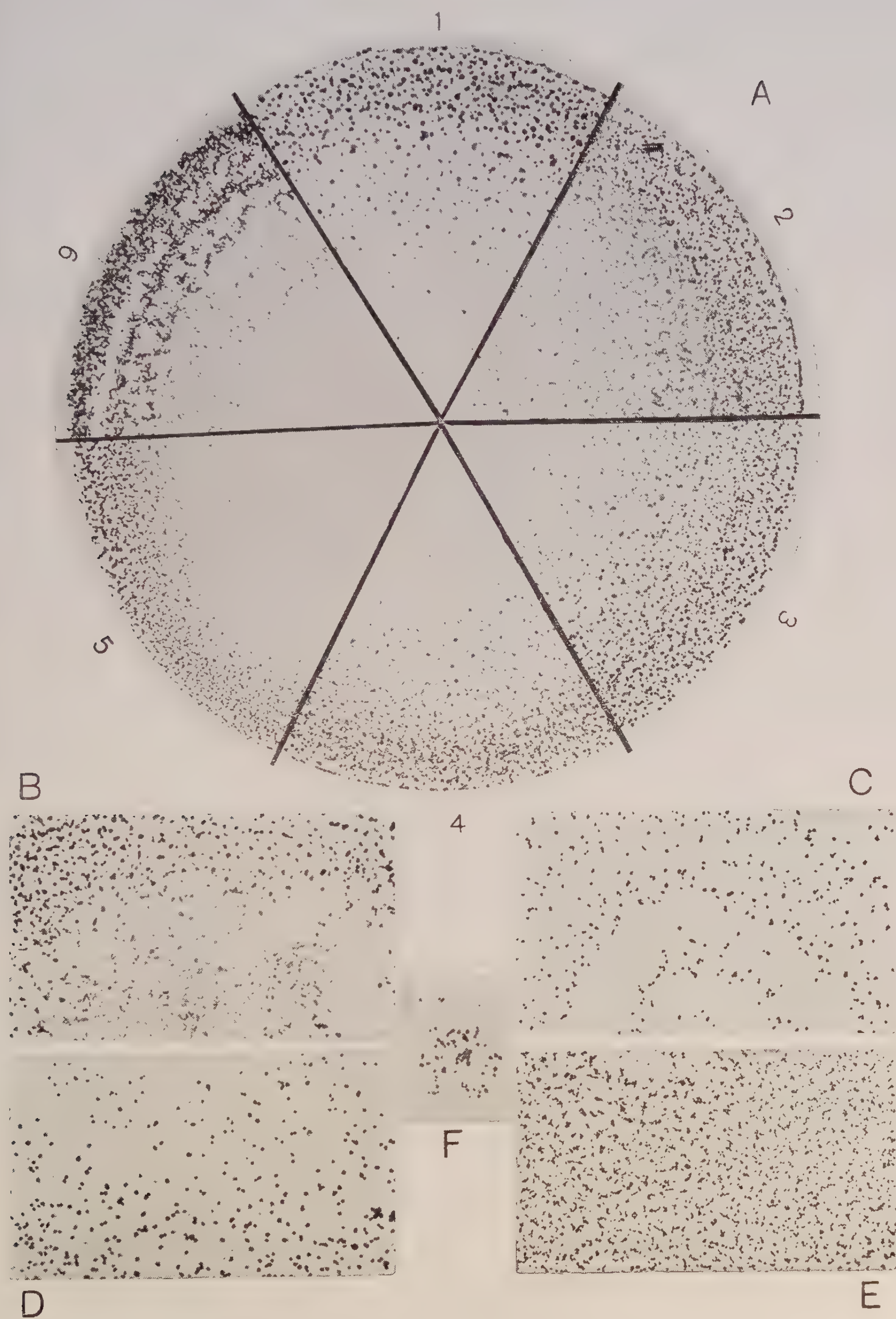
Fig. D. — Come in fig. B, su agar-insalata.

Fig. E. — Come in fig. B, su agar-fagioli.

Fig. F. — Come in fig. B, su agar Czapeck.



Goidànich G. — *Il marciume da « Sclerotinia minor ».*



Goidànich G. — *Il marciume da « Sclerotinia minor »*.

NOTE FITOPATOLOGICHE

II. — L'anguillulosi dell'ortensia.

Fra i numerosissimi ospiti dell'*Anguillulina dipsaci* (Kühn) Gerv. et v. Ben. l'ortensia sembra essere uno dei preferiti. Danneggiamenti causati da questo parassita animale sulle ortensie si verificano infatti da molti anni in Germania, in Olanda, in Danimarca (1) e in Francia (2) dove hanno richiamato l'attenzione dei floricultori ed anche degli studiosi per le singolari anomalie di vegetazione e di conformazione che inducono sui soggetti colpiti.

Lo scopo della presente Nota è appunto quello di descrivere tali anomalie che sono state osservate su un certo numero di varietà di ortensie nelle vicinanze di Roma, ed inoltre di discutere un possibile mezzo di lotta contro il polifago parassita che in Italia aggredisce e danneggia numerose altre piante da ornamento e da orto.

L'*A. dipsaci* invade le ortensie di qualsiasi età. I soggetti infestati si riconoscono immediatamente perchè hanno tutta o parte della vegetazione aerea di dimensioni più piccole del normale. I rami hanno perduto il portamento eretto essendo distintamente contorti, spesse volte a forma di spirale (v. fig. 1). Nella parte inferiore della porzione erbacea del ramo si nota una marcata ingrossatura, quasi esistesse un ingorgo di linfa discendente per il cessato funzionamento dei tessuti li-

(1) Goffart, *Aelchenkrankheiten der Hortensien.* « Der Blumen- und Pflanzenbau », **43**, 1939, pp. 254-255.

(2) Il caso illustrato da A. e G. Arnaud (*La maladie des Hortensias et les Nématodes.* « Rev. Path. Vég. et Entom. Agric. », **13**, 1926, pp. 340-344) presenta delle analogie con quello descritto nella presente Nota.



Fig. 1. — Ramo fiorifero di ortensia, var. *Marna*, contorto ed atrofico in conseguenza della infestazione di *Anguillulina dipsaci.*

beriani sottostanti. La superficie della zona ingrossata è tutta ondulata e presenta qua e là gibbosità anche molto rilevate (v. Tav. XIII, fig. C); inizialmente non esistono però ferite o lesioni esterne di sorta nè l'epidermide modifica il suo color verde-chiaro normale.

Le foglie sono di forma regolare, ma rimangono di taglia più piccola; il loro picciolo e la nervatura principale possono ingrossarsi in modo analogo al fusto; nella parte distale del germoglio sono affastellate ed esse pure contorte; cadono prematuramente, incominciando dalla base della pianta, dopo che i tessuti attorno all'attaccatura del picciolo si sono imbruniti. La fioritura avviene irregolarmente o manca del tutto.

Con l'andar del tempo alla superficie del fusto erbaceo compaiono delle macchie di un colore bruno sempre più intenso, fino a divenire color castagno-cupo; contemporaneamente i tessuti, in corrispondenza delle macchie, si rilassano, determinando delle tacche depresse ed infossate. In qualche punto l'epidermide si lacera, ed allora risultano delle ulcerazioni di solito allungate nel senso dell'asse del ramo e a forma di fuso (v. Tav. XIII, fig. B). L'estensione delle macchie, delle tacche e delle ulcerazioni è assai variabile e dipende dalla gravità della infestazione, dalla varietà e dalle condizioni di vegetazione della pianta e dallo stadio della malattia. Di solito però nella fase finale di questa tutta la zona ingrossata del germoglio ne è interessata (v. fig. 3).

I rami infestati dopo essersi defogliati completamente intristiscono e lentamente disseccano. Se l'infestazione è avvenuta in germogli giovani, questi muoiono senza avere neppure il tempo di aprire tutte le foglie (v. Tav. XIII, fig. A).

Praticando una sezione in un punto qualsiasi della zona ingrossata dei rami si vede quanto è riprodotto in fig. 2: i tessuti corticali sono oltremodo sviluppati in seguito all'ipertrofia ed alla iperplasia degli elementi parenchimatici. Qua e là sono ricavate delle cavità irregolari entro cui si muovono gli individui vermiformi

della *Anguillulina* (1); altri individui s'insinuano fra cellula e cellula del parenchima in cerca di alimento

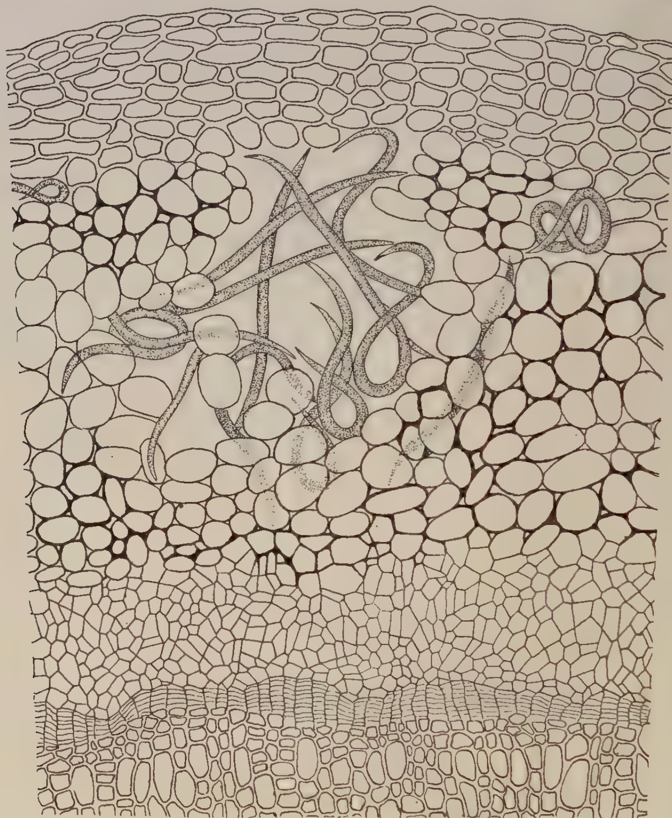


Fig. 2. — Sezione attraverso la porzione erbacea di un ramo di ortensia infestato. Gli individui vermiformi sono localizzati esclusivamente nel parenchima corticale.

o per appartarsi e deporre le uova che produrranno altri numerosissimi nematodi; uova e larve si trovano infatti

---

(1) La identificazione della specie è stata molto cortesemente eseguita dal Dr. T. Goodey, della London School of Hygiene and Tropical Medicine, noto specialista nello studio dei nematodi, a cui inviai in esame il materiale preparato secondo le modalità prescritte nel suo trattato *Plant Parasitic Nematodes.* Ed. Methuen and Co., London 1933.



Fig. 3. — Danneggiamenti nei fusti di ortensia da tempo infestati da *Anguillulina dipsaci*.

abbondanti nei tessuti infestati di recente. Attorno alle cavità le cellule si necrotizzano, prendendo una tinta bruna specialmente nelle pareti e coagulando il plasma; la necrosi si estende man mano agli altri elementi cellulari, progredendo verso il cambio e verso l'epidermide. Quando le necrosi hanno interessato ampie zone di tessuto, esternamente compaiono le macchie e le tacche brune di cui sopra si è parlato.

Le piante infestate non sempre muoiono; rimangono però gravemente danneggiate e deturpate perdendo ogni valore commerciale.

Ho riscontrato soggette ad anguillulosi specialmente le varietà *Marna, Cunert, Merveille, Amis Pasqual,* meno la *Rosabella e Goliath.* In generale si può dire che i tipi coi tessuti dei germogli più carnosi sono preferiti dai nematodi. Alcune varietà sembrano del tutto refrattarie all'infestazione, come ad esempio la *Molière;* esse, pur vivendo vicino alle altre infestate, rimangono sane in qualsiasi periodo dell'anno e stadio di vegetazione.

L'anguillulosi l'ho osservata, quest'anno, presso un floricultore alle porte di Roma, verso S. Pietro, e in una villa sul lago di Albano (1).



La lotta contro l'*Anguillulina dipsaci* sembrerebbe quasi impossibile – data la biologia del parassita – senza distruggere anche l'ospite. Al contrario Schuurmans Stekhoven ha proposto un metodo per uccidere le anguillule entro i tessuti vivi della pianta (2), dopo aver esegui-

(1) La malattia è stata segnalata nei giardini di Roma da Petri già nel 1937 (*Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1937.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », **18**, n. s., 1938, p. 64).

(2) Stekhoven Schuurmans J. H., *Quelques observations sur l'anguillulose des* Hydrangea *et son traitement.* « Mém. Musée Roy. Hist. Nat., Belgique, 2 ser, fas. 3 », 1936, pp. 13-14.

to l'esperienza e le osservazioni seguenti : Nel luglio 1930 un grande esemplare di ortensia, proveniente dall'Olanda, che soffriva palesemente di anguillulosi fu messo in una serra ove nelle ore di mezzogiorno la temperatura raggiungeva 35-37°C. ; dopo una settimana di permanenza in simili condizioni l'ortensia era in via di guarigione; migliorava sempre durante tutta l'estate fino a che, in ottobre, si poteva considerare completamente risanata. Anche i getti prelevati in agosto e piantati in terra erano del tutto disinfestati. Prove eseguite l'anno seguente con altri esemplari hanno dato il medesimo buon risultato. In Olanda il metodo fu sperimentato efficacemente anche per combattere l'*Aphelencus ritzemabosis* del crisantemo.

L'Autore belga conclude quindi che per disinfestare una pianta invasa da anguillule tipo *A. dipsaci*, si deve assoggettarla per qualche ora, e per un periodo di tempo variabile — che si deve stabilire per ciascun tipo di ospite — alla temperatura di 35-37° C.

Conferma dell'efficacia di simile metodo di disinfestazione si è avuta dai risultati di un procedimento curativo, pressappoco analogo a quello di Schuurmans Stekhoven, applicato dal floricultore proprietario delle ortensie da me studiate : egli, partendo dal concetto che i soggetti più sono carnosi più sono preferiti dall'*Anguillulina,* ha conservato, nei mesi estivi, le piante a regime idrico piuttosto deficiente ed in località pienamente assolata. Le ortensie che io vidi la metà di agosto — a cui erano state prima della cura asportate le parti ammalate — avevano emesso nuovi getti ed erano del tutto risanate. Il floricultore mi assicura inoltre che gli esemplari ottenuti per talea dai soggetti guariti non presentano infestazione di sorta.

Gabriele Goidànich.

RIASSUNTO.

Sono descritti i caratteri esterni ed interni presentati dalle piante di Ortensia infestate da *Anguillulina dipsaci* ed è discusso un metodo di lotta contro questo parassita basato sul principio di uccidere mediante il calore le anguillule entro i tessuti vivi della pianta, senza danneggiare l'ospite.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA XIII.

Fig. A. - Giovane germoglio di ortensia ucciso dalla infestazione di *Anguillulina dipsaci*.

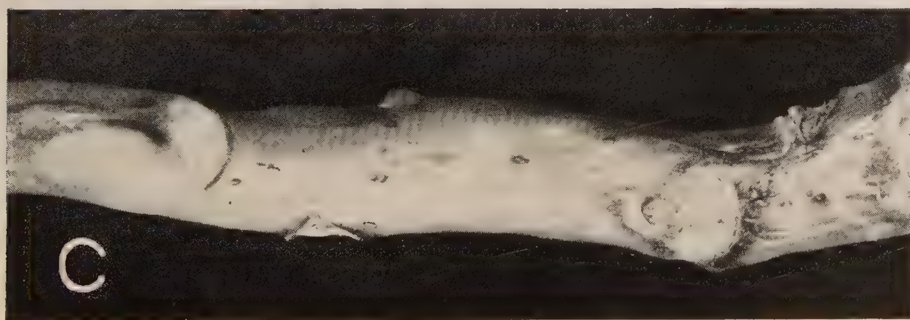
Fig. B. - Profonda ferita a forma di fuso prodottasi in corrispondenza del punto di distacco di una foglia.

Fig. C. - Porzione di un giovane ramo di recente infestato da *A. dipsaci*, mostrante le gibbosità alla superficie esterna.



A





Goidànich G. — *L'anguillulosi dell' ortensia.*

RECENSIONI

CHIARUGI A., *L'eredità in patologia vegetale.* « IV Congresso di Patologia comparata, Roma, 15-20 maggio 1939 », Vol. I: *Relazioni*, pp. 155-220.

Questa del Prof. A. Chiarugi, botanico alla Università di Pisa, è fra le relazioni che hanno suscitato il maggiore interessamento al IV Congresso di Patologia Comparata, non solo dei fitopatologi, ma anche dei medici e dei veterinari per la grande dottrina che in essa il Relatore ha profuso e per la chiarezza con cui ha saputo illustrare i vari problemi che la genetica ha risolto e si propone di risolvere nel settore della patologia vegetale, buon numero dei quali hanno immediati riflessi benefici sull'agricoltura pratica.

Nella relazione sono innanzitutto indicati i progressi fatti, quasi esclusivamente durante l'ultimo secolo, nella patologia eziologica dei vegetali, i quali hanno messo in luce l'importanza che compete ai fattori ereditari, a fianco dei fattori ambientali e — per le malattie infettive — degli agenti patogeni nel determinismo dei processi morbosi. E cioè vien dimostrato che in aggiunta agli evidenti fattori patogenici esterni — fisici e biologici — anche tutti i fattori genetici, che in qualsiasi momento della vita contribuiscono a mantenerne l'equilibrio normale, sono potenzialmente fattori patogenici.

Tali fattori interni o costituzionali sono divisi dal Chiarugi in due categorie:

1.ª) quelli che hanno un'azione patogenica diretta, che costituiscono cioè di per se stessi un fattore patogenico.

2.ª) quelli che hanno soltanto un'azione patogenica indiretta, che condizionano semplicemente una suscettibilità verso fattori patogenici esterni, fisici o biologici, in mancanza dei quali la malattia non insorge.

I. — Fattori ad azione patogena diretta.

Lo squilibrio nella proporzione delle gene costruttrici del soma o la mutazione di alcune di esse possono essere la causa di uno sviluppo anormale o di processi fisiologici abnormi ed essere quindi l'agente eziologico diretto di un particolare aspetto patologico, che può ridurre grandemente la lunghezza della vita o la fertilità dell'organismo, oppure causarne senz'altro la sterilità o la morte.

La costituzione genetica dell'organismo può avere un'azione patogenica diretta:

A) per un cambiamento genotipico di una parte dell'organismo: durante lo sviluppo il soma può trasformarsi in un mosaico di almeno due tipi di cellule diventando così sede di anomalie a causa dell'abnorme attività funzionale;

B) per il cambiamento genotipico dell'intero organismo provocato da mutazioni genomatiche (cambiamenti di massa del genoma), mutazioni cromosomiche, mutazione di singole gene (mutazioni propriamente dette); quest'ultime sono stabili od instabili a seconda che la modificazione subita dalle gene è o no reversibile.

II. — Fattori ad azione patogena indiretta.

L'immunità e la morbilità delle piante sono determinate dalla segregazione di gene specifiche rispettivamente per la resistenza o per la suscettibilità alle malattie determinate da agenti patogeni fisici o biologici.

Anche l'aggressività dei parassiti viene condizionata geneticamente cosicchè l'insorgenza e il decorso delle malattie dipendono, oltre che dalle condizioni di ambiente e di cultura, dalle possibilità e dalla frequenza delle variazioni ereditarie mediante incrocio e mediante mutazione di ambedue i simbionti.

Le condizioni genetiche della resistenza e della immunità, qualunque sia il tipo di difesa a cui la pianta ricorre, sono nel complesso semplici e si possono mettere in evidenza sperimen-

talmente incrociando razze resistenti con razze suscettibili ad una determinata malattia.

L'uomo può intervenire nella lotta che si svolge tra ospite e parassita incrementando la diffusione di razze resistenti, individuate o create dalla sua opera.

L'individuazione di razze resistenti è basata sul principio di isolare nell'ambito di una popolazione naturale di una determinata pianta — di costituzione sempre complessa — quei biotipi che si distinguono per una particolare refrattarietà all'infezione; il carattere di una più alta resistenza ad una malattia si può così inserire per selezione in quel complesso di caratteri ecologici ed economici di cui sono dotate le piante coltivate in un ambiente agrario.

La creazione di razze resistenti si ottiene con la ibridazione e il successivo isolamento dei soggetti derivati dall'incrocio dotati del carattere che si cerca di mettere in evidenza. Non vi sono praticamente limiti dal punto di vista genetico all'applicazione del metodo della ibridazione interspecifica per la creazione di nuove razze resistenti e di nuove combinazioni genetiche.

Per quest'opera di creazione e di selezione di razze resistenti è molto importante la conoscenza delle leggi concernenti i centri genetici delle piante coltivate. Queste leggi permettono di individuare le regioni di accentramento delle gene dominanti — comprese quelle della resistenza — perdute nel corso di millenni, dalle piante coltivate che si trovano nelle aree marginali, durante l'emancipazione dei caratteri recessivi che sono quelli che presentano un alto valore agronomico. Le razze esistenti nei centri genetici contengono le gene che determinano la resistenza allo stato dominante, generalmente legate a gene dominanti di caratteri poco pregevoli e primitivi; selezionando semplicemente tali razze non si possono ottenere che scarsi risultati agronomici, mentre selezionando i prodotti dell'ibridazione fra razze nostrali con razze accantonate nei centri di origine della specie si può costituire nuove razze nelle quali i caratteri economicamente ed agronomicamente pregevoli propri della razza da tempo coltivata sono riuniti con i caratteri della resistenza alle malattie propri della specie o delle razze selvatiche.



Questa relazione — della quale è stato fatto un riassunto molto conciso, quasi schematico — illumina e prospetta le enormi possibilità, scientifiche e pratiche, che si offrono all'indirizzo genetico della patologia vegetale.

Ed è augurabile che sia attentamente letta e meditata affinchè possa servire di incentivo ad una attività italiana di genetica applicata alla fitopatologia con la vastità di mezzi e di vedute che richiede l'agricoltura del nostro Paese.

Gabriele Goidànich.

Prof. Lionello Petri, *Direttore responsabile.*

Il presente " Bollettino „ viene inviato in omaggio a tutte le Istituzioni Sperimentali Agrarie governative e consorziali, italiane ed estere, in cambio di altre pubblicazioni scientifiche.

Abbonamento di favore, limitato ad Enti agrari provinciali, all' anno L. 15 —

„ ordinario nell' interno . . . . . „ „ 25 —

„ „ all' estero . . . . „ „ 40 —

La collaborazione al « Bollettino » da parte di estranei alla Stazione è vietata in linea di massima. Eccezionalmente possono esservi pubblicate memorie o relazioni riguardanti lavori compiuti da estranei per incarico della Stazione o da estranei che hanno già fatto parte del personale della Stazione.

Sono a carico dei collaboratori del « Bollettino », non appartenenti all' organico della Stazione, le spese per l'esecuzione dei clichés tipografici e delle tavole. Degli estratti vengono date gratuitamente 30 copie, le altre in più sono a pagamento.

